

(Aus der Abteilung für experimentelle Zellforschung an der Charité
Berlin. Abteilungsvorstand: Prof. Dr. R h. E r d m a n n.)

Untersuchungen über das Verhalten des Hühnerpankreas in der Gewebezüchtung

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

an der

Friedrich-Wilhelms-Universität zu Berlin

Von

Hermann Pinkus

Berlin

Tag der Promotion: 16. Sep. 1930

Jena
Gustav Fischer
1930

(Aus der Abteilung für experimentelle Zellforschung an der Charité
Berlin. Abteilungsvorstand: Prof. Dr. Rh. Erdmann.)

Untersuchungen über das Verhalten des Hühnerpankreas in der Gewebezüchtung

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

an der

Friedrich-Wilhelms-Universität zu Berlin

Von

Hermann Pinkus

Berlin

Tag der Promotion: 16. Sep. 1930

Jena
Gustav Fischer
1930

Gedruckt mit Genehmigung
der
Medizinischen Fakultät der Universität Berlin

Dekan: Prof. Dr. Friedrich

Referent: Prof. Dr. Rh. Erdmann

Korreferent: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. R. Fick

Sonderabdruck aus dem
Archiv für experimentelle Zellforschung.

1930. Bd. X.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Meinen lieben Eltern!



Digitized by the Internet Archive
in 2025

I. Einleitung.

Die Methode der Gewebezüchtung in vitro hat der anatomischen, physiologischen und klinischen Forschung neue Wege geöffnet. Doch ist die wichtigste Vorfrage, wie weit das Zellmaterial in den Kulturen mit den Geweben im Organismus vergleichbar ist, gerade für die große Gruppe der epithelialen Organe vorläufig noch nicht geklärt.

Zwar haben sich die Anschauungen in den letzten Jahren bedeutend genähert. Weder hat sich die ursprüngliche Annahme von Carrel und Burrows (8) als richtig erwiesen, daß sich in vitro echte Drüsenschläuche neu bilden. Noch konnte Champy (9, 10, 11) seine Auffassung aufrechterhalten, daß alle Zellen sich in den Kulturen zu einem indifferenten Zelltyp umbilden [Champy und Morita (12)].

Von der einzigen Ausnahme der Ebelingschen Schilddrüsenkulturen abgesehen (20, 21, 22), in denen die Zellen noch nach Monaten ihre Funktion und Morphologie wahrten, unterscheiden sich die Epithelzellen *in vitro* mehr oder weniger weitgehend von dem Ausgangsmaterial. Dabei werden bald die physiologischen, bald die morphologischen Eigenschaften stärker betroffen. In der Regel läßt sich ein Verlust von im Organismus vorhandenen, spezifischen Eigenschaften feststellen.

Doch ist der biologische Wert der Epithelzellen in den Explantaten in zweierlei Hinsicht umstritten.

Die Anschauungen gehen darüber auseinander, ob der Verlust der Zelldifferenzierungen ein dauernder ist [Champy und Morita (12)], oder ob die Zellen unter bestimmten Umständen die spezifischen Eigenschaften *in vitro* wiedererlangen können [Ebeling (19), Ebeling und Fischer (23), Fischer und Parker (29, 30)].

Ferner bestehen Unstimmigkeiten darüber, ob die hoch differenzierten Zellen des Organismus *in vitro* weiterleben und ihre Differenzierungen zurückbilden, ob also eine „Entdifferenzierung“ im Sinne Champys (12, S. 336) stattfindet [Luna (52), Chlopin (14, 15), Kapel (41)], oder ob sie zugrunde gehen und nur weniger hoch differenzierte oder indifferente Elemente überleben [Mitsuda (58, 59), Karminski (42), Olivo (62), Heim (37)].

Zum Studium dieser Fragen schien das Pankreas besonders geeignet.

Es sollte ferner der Versuch gemacht werden, eventuell zu Rein- und Dauerkulturen exokriner Drüsenzellen zu gelangen. Auf die Wichtigkeit solcher reinen Zellstämme als Material für die verschiedensten Untersuchungen ist oft hingewiesen worden [Fischer (28)].

Aus unten näher dargelegten Gründen wählte ich das Pankreas neugeborener Küken, zumal die Gewebe des Huhnes am meisten zu Kulturzwecken gebraucht werden.

II. Literaturangaben über das Pankreas.

In der Literatur finden sich keine genaueren Angaben über das Verhalten von Pankreasgewebe *in vitro*.

Champy (9), Lambert und Hanes (47) und Barta und Petrovits (3) erwähnen es lediglich, ohne Näheres mitzuteilen. Maximow (56) fand bei Untersuchungen, in denen er Stücke sehr

junger Säugetierembryonen explantierte, einige Male die Entwicklung verzweigter Drüsenbäumchen aus der Pankreasanlage.

Erst als die hier zu beschreibenden Untersuchungen schon dem Abschluß nahe waren, erschien Kapels Arbeit (41), in der er unter anderem kurz über die Züchtung von Pankreasgewebe berichtet. Auch aus seinen Angaben läßt sich kein klares Bild von seinen Befunden gewinnen.

Er benutzte Organe von 16—19 Tage alten Hühnerembryonen. Die Versuche ergaben ähnliche Resultate wie die Explantation von Lebergewebe. Dieses verflüssigte stark das Medium. Es wanderten „große unregelmäßige amöboide Zellen“ aus, deren „Protoplasma mit großen Fetttropfen angefüllt“ war. Die Kulturen gingen bald zugrunde. Nur wenn nach dem Vorgang Fischers (28) Herzmuskelfragmente den Kulturen zugesetzt wurden, blieb das Epithel am Leben, indem es in die Muskulatur hineinwucherte. Mit dieser Methode wurde Pankreasgewebe durch einen Monat mit 14 Passagen gezüchtet.

Die Angaben der meisten Autoren über Morphologie und Physiologie der Bauchspeicheldrüse stützen sich auf Untersuchungen des Organs bei Säugetieren. Zytologische Angaben über das Vogelpankreas finden sich nur vereinzelt [Krause (45), Clara (16, 17), Ukai (77)]. Doch scheinen die Verhältnisse bei denen Tierklassen in vielen Punkten vergleichbar.

Das Pankreas der höheren Wirbeltiere besteht aus langgestreckten Tubuli, die durch Vermittlung von Schaltstücken in die Ausführungsgänge münden. Das Epithel der Schaltstücke setzt sich als zentroazinäre Zellen in die Tubuli hinein fort. Zwischen den Tubuli liegen unregelmäßig geformte Zellhaufen, die Langerhansschen Inseln, in denen die Zellen unregelmäßig oder zu Bändern geordnet um Blutkapillaren gelagert sind.

In der umfangreichen Literatur herrschen bei weitem die Arbeiten vor, die sich mit dem Bau und der Bedeutung der Langerhansschen Inseln und ihren Beziehungen zu den exokrinen Drüsenteilen befassen¹⁾.

An zytologischen Angaben findet sich folgendes:

An den exokrinen Parenchymzellen kann man eine innere und eine äußere Zone unterscheiden, an deren Grenze der Kern liegt. Im Basalteil der Zelle liegen im basophilen Protoplasma die Mitochondrien in Form von Körnern und Fäden. Der Spitzenteil der Zelle ist je nach dem Sekretionszustand in größerer oder kleinerer Ausdehnung erfüllt von ziemlich groben Sekretgranula, den Zymogenkörnern. Diese werden durch Pikrinsäure, Chromsäure und andere ähnliche Mittel fixiert und färben sich mit sauren Farben. Im

1) Eine ausführliche Darstellung dieser Fragen findet sich unter anderem bei Oppel (64), Heiberg (36), Gellé (34).

basalen Teil finden sich regelmäßig feine Fettkörnchen [Opie (63), Saguchi (71)]. Der Kern ist rundlich mit deutlicher Kernmembran und feinem Chromatingerüst. Bei Nichtsäugern findet sich ein großes eosinophiles Kernkörperchen. Häufig sollen sich zweikernige Zellen finden. Mitosen sind für verschiedene Tierarten beschrieben.

Die Zellen der Ausführungsgänge haben einen kleineren, länglichen, chromatinreichen Kern. Das Chondriom gleicht dem der Parenchymzellen. Dieselben Charaktere kommen den flachspindligen zentroazinären Zellen zu.

Die Zellen der Langerhansschen Inseln sind im ganzen kleiner, polygonal, mit rundlichem Kern, der keinen Nukleolus besitzt. Ihr Protoplasma nimmt die meisten Farbstoffe gar nicht oder nur wenig auf, so daß sie auf mikroskopischen Schnitten hell erscheinen. Das Chondriom wird im allgemeinen als staubförmig fein beschrieben.

Lane (48) lehrte in den Inseln zwei Arten von Zellen unterscheiden, die er A- und B-Zellen nannte. Die in größerer Zahl vorhandenen B-Zellen sind kleiner. In ihnen läßt sich nach Fixierung mit Sublimat oder Chromgemischen eine feine dichte Körnelung nachweisen. Die etwas größeren A-Zellen liegen einzeln oder in kleinen Gruppen und zeigen nach Fixierung mit Alkohol, Formol u. a. eine feine Granulierung. Beide Arten Granula sind untereinander und von Zymogen verschieden. Ukai (77) unterscheidet dieselben Zellarten als azidophil und basophil.

Außerdem finden sich im Pankreas Gruppen von vegetativen Ganglienzellen. Ferner sind eingesprengte Lymphfollikel beschrieben.

Als für meine Zwecke besonders wichtige Charakteristika des Pankreas der Vögel wird hervorgehoben die besonders geringe Entwicklung des interstitiellen Bindegewebes und die geringe Zahl der Ausführungsgänge, an denen lange, gewundene, manchmal verzweigte Drüsenschläuche hängen.

Das Pankreas der Vögel besteht aus mehreren langgestreckten Lappen, die zwischen den Schenkeln der Duodenalschlinge liegen und ihr Sekret durch 1—3 Ausführungsgänge entleeren. Als feiner Fortsatz erstreckt sich das sogenannte Milzsegment nach der Milz zu. Während die Inseln im ventralen Lappen klein und spärlich sind, sind sie im dorsalen Lappen größer und zahlreicher, besonders gehäuft jedoch im Milzsegment.

Clara (16) beschreibt eigentümliche Zellgruppen, die er als dunkle Inseln bezeichnet. Zylindrische oder konische Zellen sind zu tubulusähnlichen Bildungen, die oft ein Lumen enthalten, geordnet. Dazwischen ist das Bindegewebe etwas

reichlicher entwickelt. Das Protoplasma dieser Zellen soll sich mit verschiedenen Farbstoffen besonders intensiv färben. Er hält diese Gebilde für Vorstufen der Langerhansschen Inseln.

Mehrere Autoren haben sich mit der Frage der Regeneration des Pankreas nach Zerstörung eines Teiles und mit seinem Verhalten bei der Transplantation befaßt [Kyrle 46], Carraro (7), H. Fischer (31)].

Kyrle arbeitete mit Hunden und fand hier eine starke Regenerationsmöglichkeit der Drüse. Die Wucherung ging von den Ausführungsgängen aus, die imstande waren, sowohl neues Parenchym wie neue Inseln zu bilden. Das alte Parenchym beteiligte sich nur in geringem Maße. Bei Transplantationen gingen die Tubuli zugrunde, die Inseln blieben erhalten. Auch hier begannen die Ausführungsgänge zu wuchern.

H. Fischer beobachtete bei Fröschen, daß die kräftige Regeneration von den alten Tubuli selbst ausging, während die Gänge erst später Sprossen bildeten, die zu den neuen Schläuchen hinführten. Neubildung von Inseln sah er nicht. Analog waren die Resultate bei der Transplantation. Im Transplantat konnten Inseln zu keinem Zeitpunkt gefunden werden.

Clara (17) weist darauf hin, daß sich die Bauchspeicheldrüse der Amphibien ebenso wie die der Vögel durch die geringe Entwicklung des Ausführungsgangsystems vom Säugerpankreas unterscheidet. Er vermutet, daß sich die verschiedene Art der Regeneration bei den beiden Tierklassen darauf zurückführen läßt.

Die wiedergegebenen Tatsachen ließen es lohnend erscheinen, das Vogelpankreas für Explantationsversuche zu benutzen.

Einmal konnte man hier hoffen, Wachstum ausgebildeter Drüsenzellen zu erhalten, nicht nur von Ausführungsgangepithelien, wie das für andere Drüsen beschrieben ist [Mitsuda (58, 59), Maximow (55), Karminski (42)].

Dann war zu erwarten, daß die Bindegewebsarmut des Organs es erleichtern würde, reines Epithel zu isolieren.

III. Material und Methoden.

Zu meinen Versuchen benutzte ich Hühnerembryonen im Alter von 8–20 Tagen und Küken im Alter von einigen Stunden bis zu mehreren Wochen. Zu den meisten Serien wurden etwa 1 Tag alte Küken verwendet, die noch nicht gefressen hatten.

Das Pankreas ist bei diesen Tieren ein mehrere Zentimeter langes schwächliches Organ, das aus zwei ventralen und einem deutlich dreikantigen dorsalen

Lappen besteht. Es liegt zwischen den Schenkeln der spitzwinklig geknickten langen Duodenalschleife. Das Milzsegment ist makroskopisch nicht faßbar. Die Masse des Organs zeigt beträchtliche individuelle Schwankungen.

Als Kulturmedium wurde eine Mischung von Heparin-Hühnerblutplasma und Hühnerembryonalextrakt benutzt¹⁾. Die Kulturen wurden nach der von Fischer (26) für Epithelzüchtung abgeänderten Carrel'schen Deckglasmethode angelegt.

Den Küken wird in leichter Chloroformnarkose die Bauchhöhle weit geöffnet. Die Spitze der Duodenalschlinge, die frei beweglich einen großen Teil der rechten Bauchseite einnimmt, wird mit einer Pinzette gefaßt und hochgehoben. Dann läßt sich leicht das ganze zwischen den Duodenalschenkeln befindliche Mesenterialgewebe mit dem Pankreas mittels einer Schere heraus-schneiden, ohne den Darm zu verletzen.

Sofort nach der Operation wurde ein den ganzen Querschnitt umfassendes Stück der Drüse fixiert. Der übrige Teil des Organs wurde nach Möglichkeit von anhaftendem Blut und Gewebsresten befreit. Höchstens 1 mm große Stückchen wurden dann zu Deckglaskulturen, zu denen zunächst reines Heparinplasma gebraucht wurde, verwendet. Das Plasma erstarrt sehr schnell, nachdem die Explantate hineingebracht sind.

In der Regel nach 72 Stunden wurden die Kulturen, die dann häufig schon große Epithelmembranen aufwiesen, so abgeschnitten, daß etwa ein Drittel bis die Hälfte der Membranen an dem Ausgangsstückchen blieb. Dieses wurde in etwas sterile Ringerlösung übertragen. Als Instrumente wurden hauptsächlich das von Kapel (41) angegebene Epithelmesser und eine Lanzette mit halbmondförmigem Blatt gebraucht. Damit lassen sich auch größere, zarte Epithelmembranen leicht übertragen.

Auf einem frischen Glimmerplättchen wurde ein Tropfen einer Plasma-extraktmischung im Verhältnis von 6:1 flach ausgebreitet. Bald nach dem Erstarren wurde die Kultur auf die Oberfläche des Mediums gebracht und mit einem kleinen Tropfen verdünnten Embryonalextraktes bedeckt. Es ist nicht nötig, genau den Moment des Erstarrens der Unterlage abzupassen, wenn man die deckende Flüssigkeit so flach ausbreitet, daß die Kulturen nicht flottieren können. Dadurch wird das Explantat zugleich unter die günstigsten Bedingungen für den Zutritt des Luftsaauerstoffs und die möglichst ebene Ausbreitung der auswandernden Zellen gebracht. In der gleichen Weise wurde das Umbetten der Kulturen alle 3 Tage wiederholt.

Zur mikroskopischen Untersuchung wurden neben der Lebendbeobachtung verschiedene Methoden angewandt.

Fixiert wurde in verdünntem Formol oder Orth'schem Gemisch. Zur Erhaltung der verschiedenen Granulationen und der Mitochondrien wurde Osmium-Kaliumbichromat-Essigsäure nach Bensley (4) oder Chromalaun-Kaliumbichromat-Formol nach Kolster (44) benutzt. Zur Färbung kam Delafield-

1) Das Blut wurde jungen ausgewachsenen Hühnern durch Venenpunktion entnommen. Zu je 3 ccm Blut wurden 0,2 ccm einer Heparinlösung 1:1000 zugesetzt. Der Embryonalextrakt wurde aus 6—10tägigen Embryonen bereitet.

sches Hämatoxylin in Verbindung mit Eosin, van Giesonscher Farblösung oder Sudan III zur Anwendung, ferner Anilinwasser-Säurefuchsin-Methylgrün nach Bensley und Heidenhainsches Eisenhämatoxylin.

Zur Herstellung von Schnitten wurden Organstücke und Kulturen über Ligroin oder Zedernholzöl in Paraffin eingebettet.

Die Kulturen wurden meist als Totalpräparate gefärbt und untersucht. Da sich bei der Färbung mit Säurefuchsin-Methylgrün das Kulturmedium stark mitfärbt, mußte ich für diesen Zweck die Methode etwas abändern, um brauchbare Resultate zu erzielen. Die Deckgläschen mit den fixierten und gewässerten Kulturen werden mit einem großen Tropfen der Fuchsinlösung bedeckt und nur kurz erwärmt, bis gerade Dämpfe aufsteigen. Dann gründliches Wässern. Auf die Kontrastfärbung mit Methylgrün wird entweder verzichtet oder sie muß so lange ausgedehnt werden, bis die Präparate dunkelviolet erscheinen. Differenzieren in 96proz. Alkohol, bis keine dichten Farbwolken mehr abgehen. Absoluter Alkohol, Xylol.

Die sehr störenden Niederschläge, die sich bei Fixierung mit Chromgemischen bilden, lassen sich leicht mit einem feinen Marderhaarpinsel entfernen.

IV. Histologie des Ausgangsmaterials.

Betrachtet man Querschnitte durch das Pankreas eines Kükens, das noch nicht gefressen hat, so sieht man zwei dicht nebeneinander gelagerte ventrale Drüsenlappen von unregelmäßiger Form und in einiger Entfernung von ihnen den deutlich dreieckigen Dorsallappen. Zwischen den ventralen Lappen liegt lockeres Bindegewebe, das große Gefäße und Ausführungsgänge enthält. Streckenweise verschmelzen die ventralen Lappen miteinander, manchmal ist auch der dorsale Lappen mit ihnen durch eine schmale Parenchymbrücke verbunden.

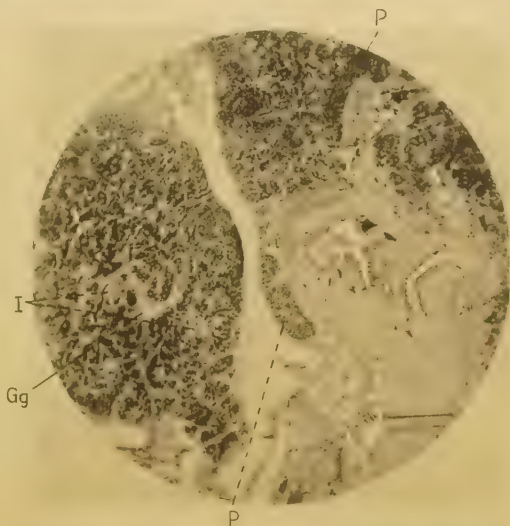


Fig. 1. Schnitt durch das Pankreas eines 1 Tag alten Kükens. Kolster, Heidenhain E. H. Leitz Obj. 3, Ok. 1. Man sieht Drüsengewebe und 2 größere Gänge. Weitere Erklärung im Text.

Die Lappen bestehen aus Drüenschläuchen, die in den verschiedensten Richtungen getroffen sind (Fig. 1). Dazwischen liegen vereinzelt kleine und mittelgroße Ausführungsgänge. Außerdem heben sich bei schwacher Vergrößerung als helle Flecke die Langerhansschen Inseln ab, die in den ventralen Lappen nur in geringer Zahl als kleine rundliche Zellgruppen vorhanden sind (Fig. 1 I), während sie im dorsalen Lappen oft eine zusammenhängende Fläche in der Mitte des Querschnittes einnehmen. Doch können sie an anderen Stellen auch in diesem Lappen fast ganz fehlen. Sie sind stets reich mit Kapillaren versorgt, die die größeren Inseln in kleine Bezirke aufteilen. Eine bindegewebige Drüsenkapsel ist in diesem Alter nur andeutungsweise vorhanden. Man sieht eine Reihe spindliger Zellen und einige Lagen kollagener Fibrillen.

Im Innern der Lappen sind die reichlich vorhandenen kapillären Blutgefäße, die in Fig. 1 als schwarze Striche erscheinen, nur von wenigen Mesenchymzellen begleitet. Fibrilläres Gewebe ist nur um die Ausführungsgänge in geringem Maße entwickelt. Eine Läppchenzeichnung ist nicht zu erkennen. Nur manchmal sind am Rande der Lappen kleine Parenchymgruppen durch etwas mehr lockeres Bindegewebe voneinander getrennt. Eine zusammenhängende Kapsel um die Inseln ist nicht vorhanden. Es kommt vor, daß das Lumen eines Tubulus nur auf einer Seite von exokrinen Zellen, auf der andern von Inselzellen begrenzt wird.

Hier und da sind einige typische vegetative Ganglienzellen (Fig. 1 Gg) mit großem bläschenförmigen Kern und langen fadenförmigen Mitochondrien eingestreut.

Gelegentlich finden sich im interlobulären Gewebe, aber auch mitten im Parenchym Haufen lymphoider Zellen. Ferner fallen Granulozyten mit grober spindelförmiger azidophiler Körnelung auf, die einzeln oder in kleineren oder größeren Gruppen liegen.

Exokrine Zellen.

Die Drüsentubuli werden von hohen Zellen gebildet, die im Querschnitt Keilform haben und zu 5—6 um ein enges Lumen geordnet sind. Ihre Grenzen sind meist deutlich erkennbar. Die Kerne liegen an der Zellbasis. Sie sind rundlich, haben eine deutliche Kernmembran und einen sehr dicken, runden Nukleolus. In mit Hämatoxylin gefärbten Schnitten ist ein feines Chromatinnetzwerk deutlich.

Das Zellplasma ist basophil. In Schnitten, in denen die Zymogengranula aufgelöst sind, bildet es im Spitzenteil der Zelle

ein feines Maschenwerk, während es in der Zellbasis homogen erscheint. Hier liegen in entsprechend fixierten Präparaten die Mitochondrien in Form mäßig langer kräftiger Fäden. Sie sind unverzweigt, oft gekrümmt und meist den Zellwänden parallel gelagert.

Der ganze Raum zwischen Kern und Drüsenlumen ist dicht erfüllt von Zymogengranula, die sich mit Säurefuchsin leuchtend rot, mit Eisenhämatoxylin tiefschwarz färben. Sie sind kugelig, ziemlich grob und nicht alle gleichgroß. Zuweilen ist das Drüsenlumen von einer amorphen Masse erfüllt, die dieselben färberischen Eigenschaften besitzt.

Nach Hämatoxylin-Eosinfärbung fallen Zellgebiete, die besonders häufig an den Rändern der Drüsenlappen liegen, durch ihre trübe grauviolette Farbe auf (Fig. 1 P). Hier sind keine Drüsenlumina und keine Zellgrenzen zu erkennen. Die Kerne, die kleiner und dunkler erscheinen, zeigen immerhin eine gewisse tubulusähnliche Ordnung. Sie liegen nahe beieinander. Die Zymogenkörnchen sind in diesen Gebieten sehr viel spärlicher und liegen regellos in den Zellen zerstreut. In Organen von älteren Tieren habe ich solche Gebiete nicht beobachtet. Ich möchte sie für noch nicht voll ausdifferenziertes Parenchym halten. Ob sie mit den von Clara (16) beschriebenen dunklen Inseln übereinstimmen, erscheint mir zweifelhaft.

Ausführungsgänge.

Man kann kleine, mittlere und große Ausführungsgänge unterscheiden. Das Lumen der kleinen ist von 5—6 flachen Zellen umgeben. Die mittleren Gänge besitzen ein kubisches Epithel. Sie sind von einer mehrfachen Schicht sehr zellreichen Bindegewebes umgeben. Das Epithel der großen Gänge (Fig. 1) ist hoch zylindrisch, aber ebenfalls einreihig und springt in mehreren Falten in das Lumen vor.

Die Zellkerne sind einander überall sehr ähnlich. Sie sind mehr oder weniger oval, haben eine deutliche Kernmembran, ziemlich viel körniges Chromatin und ein bis mehrere Kernkörperchen, die viel feiner sind als in den Parenchymzellen. Das Zellplasma ist schwach basophil. Die Mitochondrien sind mäßig lang, fadenförmig.

Dieselben Charakteristika kommen den zentroazinären Zellen zu, die sich ziemlich selten finden.

In den Zylinderzellen der großen Gänge liegen die Kerne im äußeren Drittel der Zelle. Nach der Basis zu finden sich einige Mitochondrien. Ihre Hauptmasse aber bildet im innersten Teil der Zellen ein so dichtes Geflecht, daß die Kuppen der Zellen schon bei schwacher Vergrößerung tiefrot bzw. schwarz gefärbt erscheinen (Fig. 1 rechts).

Eine sehr auffallende Erscheinung findet sich in Präparaten, die nach Kolster fixiert und mit Eisenhämatoxylin gefärbt sind. Im Epithel der großen Gänge sind in wechselnder Zahl einzelne Zellkerne sehr dunkel, fast schwarz gefärbt. In Größe und Struktur gleichen sie den übrigen. In anderen nach Tellyeniczky fixierten Schnitten, die mit Delafieldschem Hämatoxylin und Magenta gefärbt waren, wiesen eine Anzahl Kerne eine deutliche Rotfärbung auf. Da im Inhalt der Gänge, die oft zahlreiche Zellen von amorphen Massen umgeben einschließen, diese dunkle Kernform überwiegt, handelt es sich hier vielleicht um eine Degenerationserscheinung.

Inselzellen.

Die überwiegende Mehrzahl der Zellen in den Langerhansschen Inseln ist unregelmäßig polyedrisch, etwas kleiner als die exokrinen Drüsenzellen. Sie haben deutliche Zellgrenzen. Sie ordnen sich entlang den Kapillaren zu Bändern, liegen aber im übrigen regellos. Die Kerne, die wegen der geringen Größe der Zellen nahe beieinander liegen, sind etwa ebenso groß wie die der Tubuluszellen, variieren aber ziemlich stark. Sie liegen in dem den Blutgefäßen abgewandten Teil der Zelle, sind bläschenförmig, chromatinarm und besitzen keinen Nukleolus. Das Zellplasma ist schwach azidophil.

In Präparaten, die nach Bensley oder Kolster fixiert sind, ist der ganze Zelleib erfüllt von sehr feinen Körnchen. Manchmal scheinen auch feine Fäden vorhanden, doch lassen sie sich bei genauer Betrachtung immer in Körnchenreihen auflösen.

Vereinzelt finden sich außerdem kleinere Zellen mit kleinem dunklen Kern, die eine besonders dichte Körnelung aufweisen.

Die beiden Zellarten entsprechen in ihren Eigenschaften den von Lane (48) aufgestellten Typen der A- und B-Zellen. Nur ist das Mengenverhältnis gerade das umgekehrte, wie es Lane beim erwachsenen Meerschweinchen fand.

Drüsen von älteren Tieren.

Das mikroskopische Bild des Pankreas älterer Tiere weicht in mehreren Punkten von dem beschriebenen ab.

Bei einem 7 Tage alten Küken ist der grob histologische Aufbau derselbe. Die Drüsenzellen bieten jedoch das deutliche Bild lebhafter Tätigkeit.

Die Zymogengranula füllen in sehr verminderter Zahl nur die Kuppen der Zellen. Auch sind sie durchschnittlich kleiner. Der Kern ist von der Zellbasis weggerückt und liegt an der Grenze des mit Körnchen gefüllten Teils. Die Mitochondrien sind lange, kräftige, leicht gekrümmte Stäbe, fast von der Dicke eines Zymogenkorns. Sie reichen von der Zellbasis bis zu der Zone der Sekretgranula. An ihrem zentral gelegenen Ende erscheinen sie kugelig verdickt.

In den Langerhansschen Inseln hat sich das Zahlenverhältnis der A- und B-Zellen gerade umgekehrt. Die kleinen, dicht granulierten Zellen mit dunklem Kern sind weitaus in der Überzahl.

Bei einem mehrere Wochen alten Tier erscheint der ganze Bau der Drüse viel kompakter. Das intralobuläre Bindegewebe ist auch hier sehr schwach entwickelt. Das interlobuläre Gewebe ist bedeutend zellärmer und derber.

Mitosen.

In allen meinen Präparaten habe ich Mitosen nur ganz vereinzelt gefunden, sowohl im exokrinen Parenchym wie in den Inselzellen. Das ist in Anbetracht der starken Größenzunahme, die das Pankreas in den ersten Lebenstagen erfährt, merkwürdig. Ob die Tatsache durch die Chloroformnarkose, in der die Tiere während der Operation gehalten wurden, bedingt sein kann, vermag ich nicht zu sagen. Anzeichen einer direkten Kernteilung habe ich nicht beobachtet.

Die in Teilung begriffenen Tubuluszellen scheinen frei von Sekretgranula zu sein. Die Überladung mit Zymogenkörnchen erschwert oft sehr die Beurteilung, zu welcher Zelle die Granula gehören. Doch ist in einem Falle deutlich zu erkennen, daß eine Zelle, die einen gut ausgebildeten Monaster enthält, sich etwas vom Lumen zurückgezogen hat und keine Zymogengranula besitzt. Die Mitochondrien sind in der Außenzone der Zelle in der Längsrichtung der Spindel, die parallel der Basalmembran eingestellt ist, angeordnet.

V. Morphologie der Kulturen.

a) Beobachtungen an lebenden Kulturen und gefärbten Totalpräparaten.

Explantate von jungen Embryonen.

Der jüngste Embryo, dessen Pankreas zur Verwendung kam, war 8 Tage bebrütet. In diesem Alter sind nach den Keibelschen Normentafeln (43) die Pankreasanlagen schon zu verzweigten Drüsenschläuchen ausgewachsen und haben sich zu einem einheitlichen Organ vereinigt.

Das in der Duodenalschlinge liegende ziemlich dichte Gewebe wurde zu einer Deckglaskultur verwendet. Nach 4 Tagen war das Explantat von einem dichten Hof von Bindegewebszellen umgeben. Im Innern des Stückes war ein unregelmäßiges dunkles Balkenwerk zu erkennen.

Die Kultur wurde im Orthschen Gemisch fixiert, nach Paraffineinbettung geschnitten und mit Hamatoxylin-van Gieson gefärbt. In zellreiches Bindegewebe eingelagert finden sich große Haufen von Epithelzellen, in denen die Einzelzellen um relativ weite verzweigte Lumina angeordnet sind. Diese Anordnung stimmt völlig überein mit dem Bau des Drüsenparenchyms alterer Tiere, wie es sich nach ebenso langer Kultur *in vitro* findet.

Ein weiterer Embryo war 14 Tage bebrütet. Auch hier war das Pankreas makroskopisch nicht sicher zu erkennen. Das zwischen den Schenkeln der Duodenalschlinge liegende Gewebe wurde in kleine Stücke zerteilt explantiert. Es wurde üppiges Wachstum von Bindegewebszellen beobachtet, aber kein Epithelwachstum.

Explantate von älteren Embryonen und von Küken.

Die Kulturen, die von den Drüsen 18–20 Tage alter Embryonen angelegt wurden, unterschieden sich nicht prinzipiell von denen des Pankreas eben geschlüpfter Tiere. Ebenso boten ältere Küken keine grundsätzlichen Abweichungen. Die Befunde sollen gemeinsam besprochen werden.

In der Regel sind die explantierten Stücke nach 24 Stunden von zahlreichen roten Blutkörperchen und degenerierenden Gewebszellen umgeben, die im Laufe der nächsten Tage noch an Zahl zunehmen.

Häufig finden sich auch im Medium Schwärme von glänzenden Körnchen, deren Zahl und Größe von innen nach außen zunimmt. Der Rand dieser Schwärme bildet glatte bogige Linien und rückt allmählich vor. Die Größe der Körnchen entspricht etwa der der Zymogengranula, denen sie auch durch ihre starke Lichtbrechung ähneln. Sie nehmen jedoch keinerlei Farbstoff auf.

Eine andere sehr auffällige Erscheinung findet sich regelmäßig in Kulturen, die von älteren Küken stammen. Schon nach einigen Stunden beginnend und im Laufe der ersten Tage stark zunehmend erscheint die Oberfläche des Kulturmediums wie eingetrocknet. Sie wird undurchsichtig und legt sich in Falten. Dabei treten im Medium zahlreiche grobe kristallinische Körner auf. In der Regel bleibt eine schmale Zone um das Explantat frei von diesen Veränderungen. Unter der trockenen Haut ist das Medium sehr weich, fast flüssig.

Ich glaube diese Erscheinungen auf die Wirkung der Fermente der tätigen Drüse zurückführen zu dürfen. Sie treten regelmäßig auf, wenn die Tiere, von denen die Explantate genommen wurden,

schon gefressen haben. Nur einmal fanden sie sich in einer Serie, die von einem eben geschlüpften Küken stammte.

Auf die selbstverdauende Wirkung der aktivierten Fermente ist es wohl zurückzuführen, daß, wenn ältere Tiere verwendet werden, ein großer Teil der Explantate — bis zu zwei Drittel — zugrunde geht, ohne Wachstum zu zeigen.

In den Kulturen aller Serien besitzt das Medium nach einigen Tagen nicht mehr seine typische zähe Konsistenz, sondern ist eigentümlich brüchig.

Sind die Stücke am Leben, so beginnt oft schon nach 24 Stunden ein Wachstum mesenchymaler Elemente in der bekannten Form radiär auswandernder Einzelzellen. Meist bleibt es auf einen Teil des Umfanges des Stückes beschränkt.

Epithelformen der Ausgangskulturen.

Etwas später, am 2. oder 3. Tage, beginnt das Auswandern des Epithels und zugleich die Verflüssigung des Kulturmediums. Nachdem die Ränder des Stückes sich etwas abgerundet haben, zeigen sich an einer oder mehreren Stellen zipfelförmige Auswüchse.

Im weiteren Verlauf sondern sich nun die Kulturen in mehrere Typen, die zum Teil durch das wechselnde Zusammenwirken von Wachstum und Verflüssigung bedingt sind, zum Teil aber auf der Verschiedenartigkeit des Epithels beruhen.

Eine häufige Form ist die (Fig. 2), daß bald das ganze Stück von einem rasch größer werdenden Hof zusammenhängender Zellen umgeben wird. Diese bilden in der Nähe des Stückes eine vielschichtige Masse, deren Dicke nach außen zu abnimmt, bis nur noch eine einzige Lage von Zellen eine dünne Epithelmembran bildet (Fig. 2 oben). In der lebenden Membran erkennt man nur regellos verstreute Kerne und eine wechselnde Zahl stark lichtbrechender Körnchen von sehr verschiedener Größe, die sich nach Fixation mit Sudan III rot färben, also Fett sind (Fig. 8).

Zellgrenzen oder Interzellularspalten sind nicht zu sehen. Durch Silberimprägnierung lassen sich aber stets Zellgrenzen darstellen (Fig. 3). Die bei dieser Methode auftretenden glatten oder fein gezähnelten Linien umgrenzen Flächen von unregelmäßig polygonaler Gestalt mit Zacken und lappigen Fortsätzen. Eine solche Zelle enthält meist einen, oft aber auch mehrere Kerne. Im lebenden und im nach den gewöhnlichen Methoden gefärbten Präparat

erscheinen die Kerne mit den sie umgebenden Fettröpfchen durch Zonen homogenen Plasmas voneinander getrennt (Fig. 2, 4 u. 5).

Die Ränder dieser Art von Membranen sind sehr unregelmäßig (Fig. 2). Sie sind in einige größere Spitzen ausgezogen. Außerdem aber lösen sich von der einheitlichen Zellmasse einzelne Zellen oder kleine Zellgruppen ab (Fig. 2 oben). Diese, ebenso wie die Randzellen der Membran strecken zahlreiche, mitunter sehr lange Fortsätze aus. Diese können keulenförmig, gelappt oder büschelförmig verzweigt sein. In Fig. 2 sind sie besonders am unteren Rand der

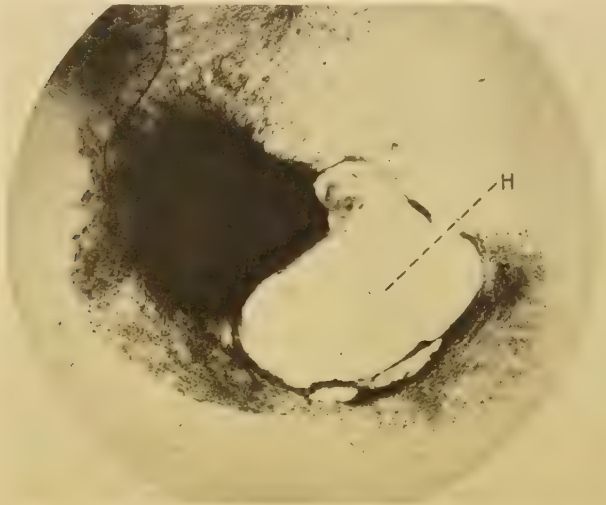


Fig. 2. 3 Tage alte Kultur aus dem Pankreas eines 1 Tag alten Kükens. Formol. Hämatox. — Sudan. Leitz Obj. 2. Ok. 2. Parenchymtyp. Am Rande lange Pseudopodien und Lösung einzelner Zellen. H = Verflüssigungshöhle.

Membran gut zu sehen. Sehr lange Pseudopodien in einer älteren Kultur zeigt Fig. 3. Sie bestehen nicht immer nur aus Ektoplasma, sondern enthalten gelegentlich Zellgranula (Fig. 5).

Die Kerne sind rundlich oder breitoval und enthalten einen, gelegentlich zwei sehr dicke runde Nukleolen (Fig. 4). Die Achsen der ovalen Kerne zeigen regellos nach allen Richtungen. Zahl und Größe der Kerne variieren in den einzelnen Abschnitten der Wachstumszone beträchtlich. Am gedrängtesten liegen sie in der Nähe des Ausgangsstückes, auch wenn man davon absieht, daß sich die

in verschiedener Höhe liegenden Kerne überdecken. Sie sind hier klein und stark färbbar. Nach außen rücken sie auseinander, zugleich nimmt ihre Größe stark zu und ihre Färbbarkeit ab. Ganz am Rand aber drängen sie sich wieder zusammen, sind auch meist kleiner und stärker färbbar.

In entsprechend fixierten und gefärbten Präparaten finden sich in den Zellen dieses Membrantyps zahlreiche Gruppen von Zymogenkörnern (Fig. 5). Es handelt sich hier also um Membranen, die von dem exokrinen Drüsenparenchym gebildet werden.

Die Verflüssigung des Kulturmediums ist in diesen Kulturen nicht sehr erheblich. Sie beschränkt sich auf eine fortschreitende Verdünnung der Plasmaschicht, deren Oberfläche die Membranen überziehen, setzt sich aber noch über ihre Grenzen hinaus fort.

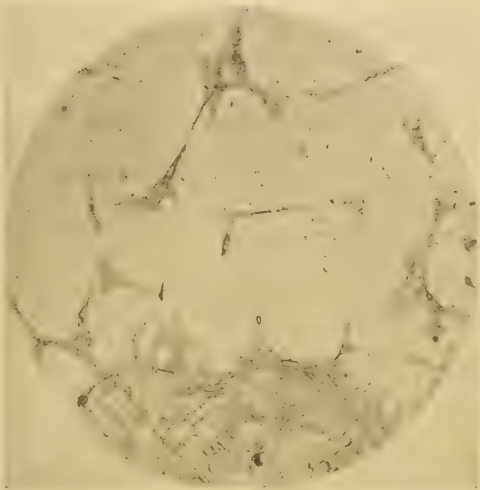


Fig. 3. 17 tägige Kultur von einem 2 Tage alten Küken. Leitz Obj. 4, Ok. 2. Darstellung der Zellgrenzen mit Silbernitrat. Loslösung einzelner Zellen und Zellgruppen von der Epithelmembran.

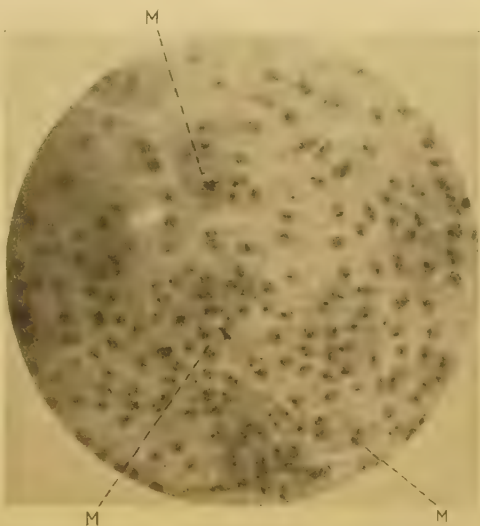


Fig. 4. 4 tägige Kultur von einem 1 1/2 Tage alten Küken. Zenker-Formol, Hämatox. Leitz Obj. 6, Ok. 1. Parenchymtyp. Ein kleiner Teil des Wachstumshofes mit 3 Mitosen (M).

Häufig findet sich in dem Medium zwischen Membran und Deckglas mehr oder weniger reichliches Wachstum mesenchymaler Zellen.

In Fällen, in denen die Fibrinolyse stärker ist, bildet sich eine oft sehr große Verflüssigungshöhle im Medium, wobei die Membran in einzelne Fetzen zerrissen wird, die die Höhle umgeben. In Fig. 2 beginnt dieser Prozeß auf der rechten Seite des Bildes. Die Zellen liegen dann entweder auf dem retrahierten, noch festen



Fig. 5. 4tägige Kultur von einem 1 Tag alten Küken. Kolster, E. H. Leitz $\frac{1}{12}$ Öl-Immers., Ok. 5 $\times$. Verteilung der Kerne, Fettvakuolen und Zymogenkörnchen im Randteil der Epithelmembran.

Koagulum, wie die Abbildung zeigt, oder in der Höhle auf dem Deckglas dem Koagulum angeschmiegt. Einzelne Zellen und Zellgruppen haften flach ausgebreitet in der Höhle am Deckglas und nehmen hier die verschiedensten Formen an (Fig. 9).

Dieser Gruppe von Wachstumsformen steht eine andere gegenüber.

Hier entstehen in der Regel nur kleinere zusammenhängende Membranen, dagegen oft schmale oder breitere Zellbänder von

manchmal sehr erheblicher Länge (Fig. 6). Die Zellgrenzen sind hier deutlich schon im Leben zu erkennen. Die Zellen haben meist gestreckt spindlige Form (Fig. 6 oben), sind alle parallel gelagert und besitzen einen breitovalen Kern mit deutlicher Membran und in der Regel zwei etwas feineren Kernkörperchen.

Zwei Charaktere fallen besonders ins Auge. Das Zellplasma ist ziemlich stark lichtbrechend und enthält nur einzelne, teilweise sehr große Fettropfen, die meist unmittelbar dem Kern anliegen und dessen Form beeinflussen können. Der Rand dieser Membranen ist stets glatt und scharf. Nur vereinzelt finden sich ganz kurze, feine, büschelförmige Pseudopodien. Betrachtet man den Rand in einer lebenden Kultur mit starker Vergrößerung, so sieht man, daß die Zellen eine gewisse Dicke besitzen, so daß sie geradezu plastisch sich vom Medium abheben.



Fig. 6. 3tägige Kultur von einem 4 Tage alten Küken. Formol, Hämatox.-Eosin. Leitz Obj. 2, Ok. 2. Das Ausgangsstück liegt links oben außerhalb des Bildes. Typ des Gangepithels. Breites Zellband, das sich hinter einem Knotenpunkt (*kn*) verschmälert und in anderer Richtung fortsetzt.

Die Zellen besitzen eine ziemlich konstante Größe. Sie liegen in den Zellbändern nicht alle in einer Ebene, sondern oft in mehreren Schichten. Gelegentlich erscheint der ganze Strang um seine Achse gedreht. Dies ist z. B. in dem schmalen unteren Zellstrang der Fig. 6 der Fall, kommt aber in der Photographie natürlich nicht gut heraus. Kleine unregelmäßige Hohlräume zwischen den Zellen finden sich häufig. Mitunter ist in einen Zellstrang ein Knotenpunkt (Fig. 6 *Kn*) eingeschaltet. Hier ist das Band verbreitert, die Zellen haben eine mehr polyedrische Form und bilden ein

Mosaik. Jenseits eines solchen Knotens setzt sich der Strang in anderer Richtung fort.

Die Fibrinolyse ist in Kulturen dieser Art stärker. Das erhöht die Mannigfaltigkeit der Formen. Ein sehr charakteristisches Bild entsteht dann, wenn sich rings um das Ausgangsstück mehrere kleine Verflüssigungshöhlen bilden, zwischen denen Stränge von Epithelzellen nach außen führen, wo sie sich arkadenartig verbinden und eine zusammenhängende Membran bilden.

Andererseits finden sich gelegentlich Kulturen, in denen vom Ausgangsstück spindlige Zellen, die in allen Charakteren den beschriebenen gleichen, einzeln im Innern des Plasmotropfens vordringen. Daß es sich hier um Epithelzellen handelt, zeigt sich daran, daß sie sich sofort zu typischen Membranen aneinanderlegen, wenn sie an die Oberfläche des Mediums gelangen.

In den Zellen dieser Art lassen sich niemals Zymogenkörnchen nachweisen. Dies in Verbindung mit den Charakteren ihrer Kerne macht es wahrscheinlich, daß es sich um Zellen handelt, die von dem Epithel der Ausführungsgänge abstammen. Diese Vermutung läßt sich durch das Studium von Schnitten durch die Ausgangsstücke beweisen.

Ein weiterer Beweis dafür, daß die beiden beschriebenen Zellformen wirklich verschiedene Epithelarten darstellen, liegt darin, daß gelegentlich in derselben Kultur beide Membranformen vorkommen.

So fand ich eine Kultur, in der von etwa einem Viertel der Peripherie Gangepithel hervorkam, während von den übrigen Seiten eine Parenchymmembran ausging. Diese vergrößerte sich sehr viel rascher, umklammerte die Zellen des anderen Typs und schob sie zusammen. Die Kultur wurde fixiert und als Totalpräparat gefärbt. In den Zellen der großen Membran und nur in diesen finden sich reichlich Zymogenkörnchen. Auch alle anderen beschriebenen Charaktere unterscheiden die beiden Zellarten, die sich mit scharfer Grenze gegeneinander absetzen.

Andererseits finden sich auch Kulturen, deren Wachstumshöfe man nicht ohne weiteres dem einen oder anderen Typ zuordnen kann. Die Kerne sind von wechselnder Form. Einige Zellen lassen sich abgrenzen, während streckenweise keine Zellgrenzen erkennbar sind. Es handelt sich hier wohl um eine Vermischung beider Zellarten.

Nicht allzu häufig kommt es auch vor, daß die Kulturen überhaupt kein expansives Wachstum zeigen, sondern nur das Stück

von Epithelzellen überkleidet wird und als Kugel in dem schnell verflüssigten Medium schwimmt. Einen Schnitt durch eine solche Kultur zeigt Fig. 7.

Nur einmal habe ich in einem gefärbten Präparat Zellen der Langerhansschen Inseln gefunden. Sie liegen einzeln als unregelmäßig polyedrische Zellen in die Membran eingestreut und zeigen einen kleinen rundlichen Kern ohne Nukleolus und eine feine rote Granulierung. Sonst habe ich nichts beobachtet, was auf ein Wachstum des endokrinen Parenchyms hindeutete.

Läßt man die Pankreaskulturen, ohne sie umzubetten, längere Zeit im Brutschrank, so schreitet die Verflüssigung fort, die Zellen kugeln sich ab, und die Kulturen gehen im Laufe von 6–8 Tagen zugrunde.

Subkulturen.

Werden die Kulturen, wie es gewöhnlich geschah, nach 3 Tagen umgebettet, wobei möglichst die Teile des Ausgangsstückes, von denen

Bindegewebszellen auswanderten, abgeschnitten wurden, so verändert sich der Wachstumstyp in gewisser Weise.

Die Kulturen befinden sich jetzt auf der Oberfläche eines schon erstarrten Fibringerinnsels, das offenbar dem Eindringen von Bindegewebszellen Widerstand leistet. Daher breiten sich auch diese Elemente häufig in einer Schicht auf der Oberfläche des Mediums aus, so daß ein membranähnlicher Wachstumshof entsteht. Immer aber ist die Zusammensetzung aus kleinen spindligen, radiär gerichteten Einzelzellen erkennbar. Je weiter nach außen, desto deutlicher werden die Zwischenräume zwischen den einzelnen Elementen.

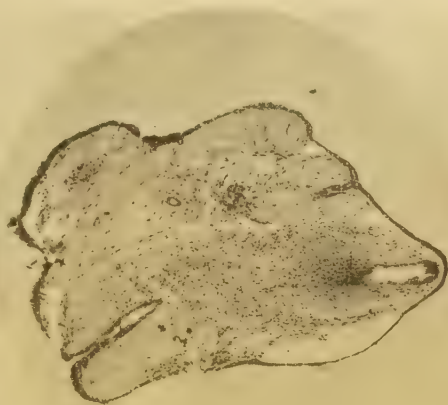


Fig. 7. Schnitt durch eine 3 tägige Kultur von einem 20 Tage bebrüteten Embryo. Orth, Hämatox. — van Gieson. Leitz Obj. 3, Ok. 1. Das Ausgangsstück ist, ähnlich wie die Fischerschen Darmorganismen, ganz von Gangepithel überkleidet.

Sehr auffallend ist auch die im Vergleich zum Epithel geringe Zahl von Fetttropfen in den Zellen.

Schiebt sich über eine solche zusammenhängende Schicht mesenchymaler Herkunft eine Epithelmembran, so daß die Epithelzellen nicht direkt mit dem Medium in Berührung kommen, dann bleibt die Verflüssigung aus. Man kann die ganze Kultur von der unveränderten Unterlage abheben.

In vielen Fällen findet sich nach der ersten Passage überhaupt kein Wachstum von Bindegewebszellen mehr. Das Epithel hat das ganze Stück überzogen und verhindert, daß die im Innern etwa noch vorhandenen Zellen herauskommen.

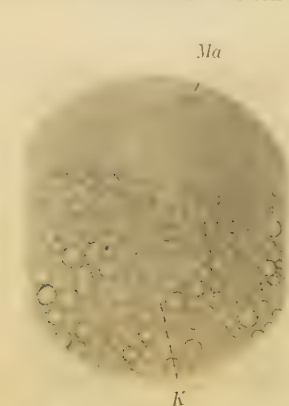


Fig. 8. 15 tägige Kultur von einem 18 Tage bebrüteten Embryo. Lebend. Himmeler $\frac{1}{12}$ Öl-Immers., Micca. Erklärung im Text.

Wie in den Ausgangskulturen beginnt auch nach der ersten Passage und später das Epithelwachstum oft erst am 2. Tag nach dem Umbetten.

Das Aussehen der Epithelzellen verändert sich. Am auffallendsten ist der große Gehalt an Fetttropfen, die den Zelleib oft dichtgedrängt erfüllen. Ein Beispiel dafür gibt die Fig. 8, die eine lebende Kultur im Alter von 2 Wochen zeigt. Diese Erscheinung ist wohl auf den Zusatz des Embryonal-extraktes zurückzuführen.

Ferner nimmt die Menge der Zymogenkörnchen ständig ab. Nach Ablauf der ersten Woche findet man sie nur noch sehr selten und vereinzelt. Damit geht das sicherste Unterscheidungsmerkmal zwischen Parenchym und Gangepithel verloren.

Auch die übrigen Unterschiede verwischen sich allmählich, sowohl was die Form und Eigenschaften der Membranen wie auch der einzelnen Zellen angeht. Schließlich zeigen alle Membranen ein ziemlich einheitliches Aussehen, das etwa in der Mitte zwischen den beiden ursprünglichen Typen steht.

Die Zellen sind groß und von unregelmäßiger Form. Dadurch, daß oft der ganze Zelleib bis auf einen schmalen Saum von Fetttropfen erfüllt ist, lassen sie sich im lebenden Präparat besser abgrenzen. Häufig liegt neben dem Kern eine große Fettkugel, die diesen an Größe gelegentlich übertrifft und ihm eine nierenartige

Form gibt. (In Fig. 8 der mit *K* bezeichnete Zellkern.) Im übrigen haben die Kerne meist breitovale Form. Sie enthalten 1–2, manchmal auch mehrere ziemlich große, rundliche, aber auch stäbchenförmige Nukleolen. Die Ränder der Membranen sind ziemlich scharf. Die Randzellen besitzen häufig lange Pseudopodien (Fig. 3). Die Fibrinolyse ist meist stark.

Diese Membranen wachsen im allgemeinen in zwei recht charakteristischen Formen. In vielen Fällen ist das ganze Mutterstück von einer in einzelne Zipfel ausgezogenen Membran umgeben (s. Fig. 1 der vorläufigen Mitteilung in Bd. 8 dieses Archives). Diese hat das unter ihr liegende Medium völlig verflüssigt und liegt dem Deckglas auf. Sie vergrößert sich, indem sie sich immer weiter in das Gerinnsel hineinfrißt. Nur einzelne Spitzen schieben sich auf den Rand des festen Mediums. Sie erscheinen infolge der Mitfärbung des Mediums in der Photographie dunkel. Man kann, ohne die Membran zu beschädigen, das ganze Plasmagerinnsel ringsum von ihrem Rand loslösen. Die Kultur bleibt dann ausgebreitet auf dem Deckglas haftend zurück.

In anderen Fällen bildet sich früh eine dem epithelisierten Explantat an einer Seite anliegende Verflüssigungshöhle. Diese wird umwachsen von zwei von den Flanken des Mutterstücks flügel förmig ausgehenden Membranen. Es entsteht die oft beschriebene „Siegelringform“ der Kultur. Den Beginn eines solchen Ringes zeigt Fig. 2. In atypischen Fällen kann das Mutterstück durch die Verflüssigung ganz zerrissen werden, und die Kultur als Ganzes umgibt dann ring- oder hufeisenförmig die Verflüssigungshöhle. Dadurch, daß auch hier die Epithelzellen den Rand des festen Mediums, dem sie von innen anliegen, verflüssigen, wird die Höhle immer mehr vergrößert.

Deckglaszellen.

In der Verflüssigungszone liegen vielfach einzelne Zellen oder kleine Zellgruppen von sehr verschiedener Form flach auf dem Deckglas ausgebreitet (Fig. 3, 8 *Ma*, 9, 10–14).

Man findet hier Zellen von dreieckiger oder unregelmäßig polyedrischer Gestalt mit langen spitzen oder gelappten, oft verzweigten Ausläufern. Sie ähneln zum Teil sehr den von Maximow (55) aus der Milchdrüse beschriebenen und abgebildeten Formen. Sie liegen allein oder verbinden sich durch ihre Ausläufer

mit anderen Zellen (Fig. 9 u. 12). Fig. 3 u. 9 zeigen auch größere Inseln aus dicht aneinander gelagerten Zellen.

Die einzelnen Zellen enthalten häufig zwei oder sogar mehrere Kerne die dicht beieinander, aber auch an entgegengesetzten Enden des Zelleibes liegen können. Die Kerne sind im allgemeinen breit-oval und ähneln mit 1-2 dicken, oft rundlichen Nukleolen und deutlicher Membran durchaus Epithelkernen. Es kommen jedoch auch langgestreckte, unregelmäßig geformte, ja bisweilen bizarr verzweigte Nukleolen vor (Fig. 10), wie man sie nur in Fibro-

blastenkernen zu sehen gewohnt ist. Auch die Kernform ist sehr veränderlich. Die Zellen enthalten meist viele Fettkörner in allen Größen, die das Zellplasma oft bis auf ein Wabenwerk reduzieren (Fig. 11). Nur ein Gebiet in der Nähe des Kernes bleibt häufig frei, ebenso wie ein verschieden stark ausgebildeter Randsaum (Fig. 11 u. 13).

Häufig liegt auch in diesen Zellen ein besonders großer Fetttropfen dem Kern dicht an (Fig. 9, 10, 11). Ja, man sieht

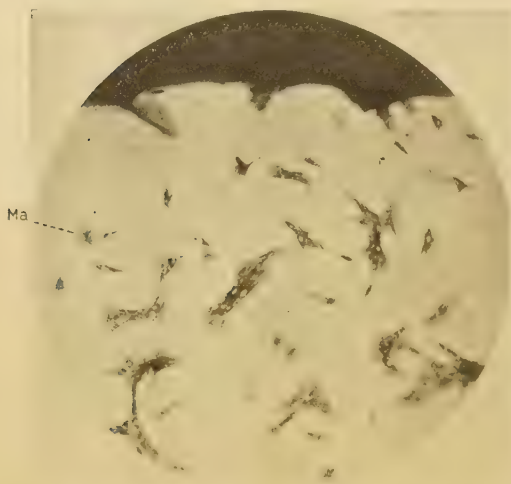


Fig. 9. 11tägige Kultur von einem 4 Tage alten Küken. Kolster, E. H. Leitz Obj. 3, Ok. 2. Einzeln und in Gruppen am Deckglas in der Verflüssigungshöhle ausgebreitete Epithelzellen. Ma = Makrophagen-ähnliche Zelle.

gerade hier die weitest gehenden dadurch bedingten Kerndeformitäten (Fig. 10). Der Kern wird zunächst nierenförmig, dann immer mehr in die Länge gezogen. Schließlich finden sich Formen, wo auf jeder Seite des Fetttropfens eine Kernhälfte liegt, die nur durch eine feine Brücke miteinander in Verbindung stehen, meist, aber nicht immer, jede mit einem Nukleolus. Die Möglichkeit ist nicht auszuschließen, daß auch eine vollständige Zerschnürung des Kerns vorkommt.

Von diesen Fällen abgesehen, finden sich Kerne, die ohne sichtbare Ursache eine meist einseitige scharfe Einkerbung zeigen. Auch Bilder, die auf eine Kernsprossung deuten, finden sich. Meist sind die einzelnen Kerne einer Zelle gleich groß, doch gibt es unter den mehrkernigen Zellen Exemplare, in denen sie von recht ungleicher Größe sind (Fig. 11).

Fig. 9 und besonders Fig. 3 zeigen diese Zellen in verschiedenen Stadien der Loslösung von den umrandenden Membranen. Es handelt sich mindestens bei einem großen Teil von ihnen sicher um Epithelzellen.

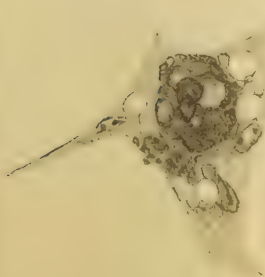


Fig. 10.

Fig. 10. Gruppe von Deckglaszellen aus einer Kultur von einem 4 Tage alten Küken. Kolster, E. H. Leitz, $\frac{1}{12}$ Öl-Immers., Ok. 5 $\times$. Eine nekrobiotische, abgekugelte Zelle umschlossen von einer riesenzellartigen Bildung, die noch mehr phagozytierte Massen enthält.

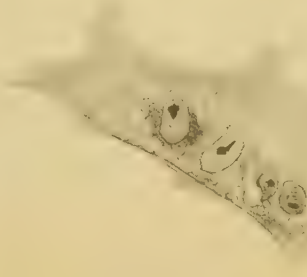


Fig. 11.

Fig. 11. Makrophagenähnliche Deckglaszelle aus einer 11 tägigen Kultur von einem 4 Tage alten Küken. Mehrere ungleich große Kerne. Kolster, E. H. Leitz $\frac{1}{12}$ Öl-Immers., Ok. 5 $\times$.

Außer diesen verzweigten Zellen gibt es noch mehr oder weniger kreisrunde (Fig. 14), die von einem breiten schwach gelappten Ektoplasmasaum umgeben sind und eine große Anzahl dichtgedrängter Fetttropfen und einen oder mehrere Kerne beherbergen. Fig. 8 zeigt in der lebenden Kultur eine solche Zelle (*Ma*). In Fig. 14 gleichen diese Kerne denen der ersten Gruppe von Zellen, häufig aber sind sie klein und von den Fetttropfen geradezu zerdrückt, so daß sie ganz unregelmäßig eckige Form haben. Auch sind sie oft von ungleicher Größe. Gelegentlich enthalten die Zellen körnige, offenbar phagozytierte Massen. Sie gleichen sehr den Zellen, die

Kapel (41) aus seinen Gehirnkulturen abbildet und als epitheliale Makrophagen bezeichnet.

In einzelnen Kulturen läßt sich eine vollständige Übergangsreihe von den verzweigten zu den runden Formen aufstellen. Stufen einer solchen Reihe zeigen die Fig. 12-14. Auch Fig. 9 (*Ma*) und Fig. 11 zeigen Übergangsformen.

Schließlich findet man noch gelegentlich Zellen, die nicht so flach ausgebreitet sind, sondern sich mehr oder weniger vom Deckglas abheben und der Kugelform nähern. Sie enthalten meist ziem-



Fig. 12. \

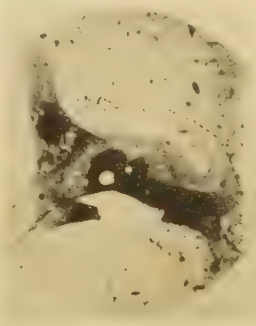


Fig. 13.

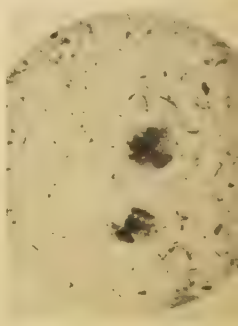


Fig. 14.

Fig. 12-14. Deckglaszellen aus einer 6tägigen Kultur von einem 1 Tag alten Küken. Kolster, E. H. Leitz $\frac{1}{12}$ Öl-Immers., Mica. Übergangsformen von typischen Epithelzellen zu völlig makrophagenähnlichen Formen.

lich reichlich körnige Massen, große Fetttropfen und einen schwer erkennbaren Kern. Sie sind als Degenerationsformen aufzufassen. In Fig. 10 ist eine solche Zelle von einer riesenzellartigen Bildung eingeschlossen und wird offenbar phagozytiert.

Mitochondrien.

In den Kulturen wurden die Mitochondrien sowohl lebend mit Janusgrünfärbung, wie nach Fixierung in entsprechend gefärbten Totalpräparaten untersucht. Sie stellen sich gelegentlich als kurze Stäbchen dar. Meist sind sie in Form von feineren oder gröberen Körnern vorhanden, die sich manchmal in Reihen anordnen. Häufig, besonders wenn die Zellen viel Fett enthalten, so daß das Protoplasma nur ein die Tropfen umschließendes Maschenwerk darstellt,

sind sie überhaupt sehr schwer zu erkennen. Kräftige Fäden, wie man sie in der dem Tier entnommenen Drüse findet, sind in den Kulturen niemals darzustellen.

Mitosen.

Bei der Durchsicht der gefärbten Präparate findet man nicht selten Mitosen in den Wachstumshöfen. In den auswachsenden Bindegewebszellen sind sie relativ häufig. In den Epithelmembranen fehlen sie manchmal ganz. In anderen Fällen aber findet man in einer Kultur ein halbes Dutzend und mehr. Ihre Verteilung und die Richtung ihrer Spindeln sind ganz unregelmäßig (Fig. 4). Häufig liegen mehrere dicht beisammen. Fig. 4 zeigt eine Prophase und zwei Monasteren. Einmal fand ich eine dreipolige Teilungsfigur. Im ganzen ist die Zahl der Mitosen in den dicken inneren Teilen der Wachstumszone größer. Doch ist es hier oft nicht leicht, sie einwandfrei zu sehen. Ob auch das Verhältnis zur absoluten Zellzahl hier höher ist als in den äußeren Abschnitten, ist schwer zu beurteilen.

Endstadien der Kulturen.

Trotzdem eine Zellvermehrung vorhanden ist, werden die Kulturen im Laufe der Zeit rasch kleiner. Die Stücke werden allmählich durchscheinend. Schließlich bleibt nur noch eine geringe Verdichtung in der Mitte der Membranen, in der eine Anzahl großer rundlicher, fettbeladener Zellen liegt. Diese Zellen, die im lebenden Präparat durch die Lichtbrechung der zahlreichen Fettkugeln dunkel erscheinen, finden sich auch schon früher einzeln in den Membranen. Sie wandern offenbar nach außen und gehen zugrunde. Sie gleichen den Makrophagen, die man auch sonst in Gewebekulturen beobachtet.

Manchmal schon nach 14 Tagen, in der Regel im Verlauf der 3. Woche, bestehen die Kulturen nur noch aus einschichtigen reinen Epithelmembranen. Diese zeigen durch kräftige Fibrinolyse ihre Lebenskraft. Sie vergrößern sich auch beträchtlich, oft im Laufe von einigen Tagen bis zum Mehrfachen ihrer Größe. Doch scheint das hauptsächlich auf einer Vergrößerung der Einzelzellen zu beruhen. Man kann die Membranen ziemlich leicht von dem Kulturmedium ablösen und als Ganzes auf einen neuen Tropfen übertragen. Dabei ziehen sie sich beträchtlich zusammen, um sich in den nächsten Tagen wieder zu vergrößern (Fig. 15).

Es kommt auch vor, daß die Membran sich nicht so flach ausbreiten läßt, sondern einen dicken kugeligen Knopf bildet, von dem dann wieder eine neue Membran ausgeht. In der Regel tritt aber keine sichere Massenzunahme auf.

Es ist schwer, diese zarten kleinen Kulturen mehrmals unversehrt umzubetten. Länger als 4 Wochen habe ich sie selten am Leben erhalten können.

In drei meiner Serien fanden sich insgesamt fünf Kulturen, die nach etwa 2 Wochen, als sie sich schon fast vollkommen zu

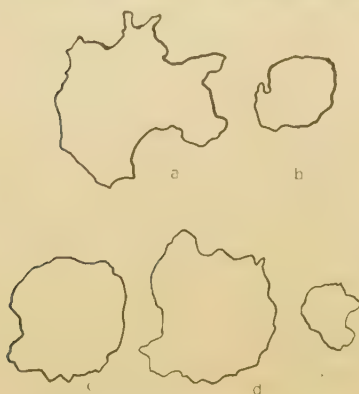


Fig. 15. Umrißzeichnungen einer Kultur von einem eben geschlüpften Küken im Abstand von je 24 Stunden. 14. bis 18. Tag. Zwischen a und b, d und e wurde die Kultur umgebettet, wobei jedesmal nur ein ganz schmaler Rand abgegeschnitten wurde.

Epithelmembranen aufgelöst hatten, deutliche Zellvermehrung aufwiesen. Die Kulturen vergrößerten sich zum Teil so beträchtlich, daß sie geteilt werden konnten. Doch stellten auch sie nach einer Züchtungsdauer von 37 bzw. 40 Tagen das Wachstum ein und gingen zugrunde. Auch hier war offenbar die mit dem wiederholten Umbetten verbundene Schädigung zu groß.

Einige Male wurden den Kulturen kleine Stückchen vom Herz einer neugeborenen Ratte zugesetzt, wie das Fischer (28) für die Dauerzüchtung von Tumoren angegeben hat. Es wurde heterologes Gewebe genommen, um die Möglichkeit der Vermischung des Epithels mit wuchernden Bindegewebszellen auszuschließen. Die Herzstückchen wurden allmählich kleiner und mußten nach einiger Zeit ersetzt werden. Das schließliche Schicksal der Kulturen änderte sich nicht.

b) Befunde an Paraffinschnitten.

Die explantierten Pankreasstückchen beherbergen, wie aus der Beschreibung des Ausgangsmaterials hervorgeht, eine große Mannigfaltigkeit von Zellen, unter denen allerdings die Epithelzellen überwiegen.

Das Schicksal der einzelnen Zellarten, besonders ihr Verhalten während der ersten Tage des Lebens *in vitro*, läßt sich nur an gefärbten Schnitten durch die Explantate verfolgen.

An solchen Schnitten fällt vor allem auf, daß stets große Teile im Innern schon im Laufe der ersten Tage zugrunde gehen. Sie erscheinen später als körnige Masse, in der sich nur noch andeutungsweise die Struktur des Gewebes erkennen läßt. Erhalten bleibt in der Hauptsache eine Randzone von verschiedener Breite. Hier zeigen die Zellen bestimmte Veränderungen, die für die einzelnen Zellarten gesondert beschrieben werden sollen.

Parenchymzellen.

Das exokrine Parenchym verändert ziemlich schnell seine Struktur. Teilweise erweitern sich die Drüsenlumina, wobei die Zellen abgeflacht werden, aber ihre Anordnung wahren. In den so entstandenen Höhlungen finden sich kugelige Gebilde, die reichlich Zymogenkörnchen enthalten. Teilweise geht aber das drüsige Aussehen völlig verloren. Die Zellen nehmen eine unregelmäßige breite Spindelform an, lagern sich einander parallel und bilden eine lückenlose Masse, deren Individuen alle nach außen zu strömen scheinen. Die Zellen enthalten reichlich Zymogengranula und Mitochondrien. Doch sind diese jetzt gleichmäßig in der ganzen Zelle verteilt.

Die Mitochondrien verlieren ihre fadenförmige Gestalt. Es finden sich, je älter die Kulturen sind, desto mehr kurze Stäbchen und grobe Körnchen. Die Zymogengranula werden schlechter färbbar. Sie erscheinen oft wie kleine Bläschen, in denen hauptsächlich die Wand gefärbt ist. Zugleich nehmen sie an Zahl ab. Daß dies kein Zeichen der Zelldegeneration ist, wird dadurch bewiesen, daß in den Teilen des Stückes, die zugrunde gehen, die Färbbarkeit der Körnchen viel länger erhalten bleibt.

Weiterhin tritt in den Zellen Fett in Form verschieden großer Körnchen auf. Es läßt sich mit Osmiumsäure intensiv schwärzen und wird auch nach langer Xylolbehandlung zum großen Teil nicht entfärbt. Auch die Fetttropfen finden sich hauptsächlich in den in lebhafter Aktivität befindlichen Randzellen.

Die Kerne werden etwas größer und bläschenförmig. Sehr häufig sind Mitosen. Oft findet man in jedem Schnitt mehrere in Teilung begriffene Kerne. Sie liegen sowohl im Mutterstück selbst, wie in den zur Bildung der Wachstumshöfe auswandernden Elementen. Fast immer sind die in Teilung begriffenen Zellen frei

von Zymogenkörnchen, selbst wenn die Zellen in ihrer Umgebung solche noch reichlich enthalten. Doch gibt es Fälle, in denen die sich teilende Zelle sowohl Sekretgranula wie Fetttropfen enthält.

Häufig findet man noch mitten in die zentrale Nekrosezone hineinragend richtige Nester von wohlerhaltenen Epithelzellen in drüsiger Anordnung.

In der Regel geht die Bildung der Wachstumshöfe von einigen Stellen aus, die in der Nähe der Oberfläche des Kulturmediums liegen. Von hier überkleiden die Epithelzellen sich ausbreitend so-

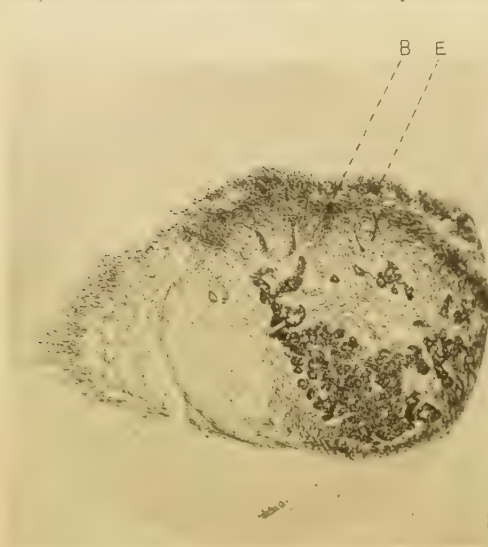


Fig. 16. Schnitt durch eine 6tägige Kultur von einem 20 Tage befruchteten Embryo. Orth. Hämatox. - van Gieson. Leitz Obj. 3, Ok. 1. Erklärung im Text.

wohl das Medium wie das Ausgangsstück. Dabei kommt keine geordnete aus gleichförmigen Zellen aufgebaute Deckepithelschicht zustande. Die Zellen liegen ungeordnet neben- und übereinander. Dagegen bilden sich gelegentlich da, wo die Zellen bereits in mehrfacher Schicht das Stück überzogen haben (Fig. 16 E), unregelmäßige Hohlräume zwischen ihnen, die dem Ganzen ein drüsenähnliches Aussehen geben.

Es kommt vor, daß aus dem Deckepithel einzelne Zellen oder

kleine Gruppen heraustreten. Sie sind durch besonders zahlreiche und große Vakuolen, die wohl Fetttropfen entsprechen, kugelig aufgetrieben. Ihr Kern ist dadurch unregelmäßig konfiguriert. Sie bilden an der Epitheloberfläche maulbeerartige Haufen und lösen sich später wohl los. Wenigstens findet man in den lebenden Kulturen häufig derartige Zellen einzeln oder in Haufen im freien Medium. Es handelt sich hier offenbar um Ausstoßung nekrobiotischer Zellen aus dem Epithelverband.

Wo die Zellen noch im Vorrücken begriffen sind, liegen sie im allgemeinen ohne Gliederung durcheinander. Ein abweichendes Bild bietet Fig. 16. Hier haben wuchernde Bindegewebszellen (*B*) um das Ausgangsstück ein dichtes Geflecht gebildet. Epithelzellen in Form von langen Schläuchen und Zapfen dringen durch das Geflecht nach außen und bilden dort eine zusammenhängende Masse (*E*) mit einzelnen Hohlräumen.

Es scheint, daß die Parenchymzellen oft phagozytierte Teilchen enthalten. Doch ist es schwer, dies in den Schnitten, wo lebende Zellen und Trümmer verschiedenster Art bunt durcheinander liegen, sicher zu entscheiden. Gelegentlich finden sich aber Zellen, deren Kerne denen der umliegenden Parenchymzellen gleichen, und die mitunter mehrkernig und immer von sehr erheblicher Größe sind. Sie beherbergen zahlreiche Fettröpfchen und viel phagozytierte Massen. Sie ähneln sehr den mit K a p e l s epithelialen Makrophagen verglichenen großen Zellen in den Wachstumshöfen der lebenden Kulturen.

Langerhanssche Inseln oder einzelne Inselzellen habe ich in meinen Schnitten nicht beobachtet.

Epithel der Ausführungsgänge.

Die Epithelzellen der größeren und kleineren Gänge bleiben auch im Innern der Stücke meist gut erhalten (Fig. 7). Das Epithel der kleinen Gänge quillt auf und ragt auf Querschnitten polsterförmig ins Lumen vor. An Längsschnitten durch die größeren Gänge (Fig. 7) sieht man, daß die Zellen, besonders in den Teilen, die dem Rand der Stücke benachbart liegen, ihre Zylinderform und palisadenartige Anordnung verlieren. Sie nehmen Spindelform an und richten sich nach außen. Wo ein Gang an die Oberfläche mündet, quillt das Epithel heraus und überzieht die Oberfläche des Stückes. Dabei bekommen die Zellen eine mehr polygonale Form. Die Fähigkeit, das Mutterstück zu epithelisieren, tritt bei dem Gangepithel viel stärker hervor als bei den Parenchymzellen, unterstützt wohl durch die starke Fibrinolyse, die schnell um das Explantat einen Flüssigkeitsraum schafft. Fig. 7 stellt einen Schnitt durch eine 3 Tage alte Kultur dar, die, in Bindegewebe eingelagert, drei mittelgroße Gänge enthält, von denen zwei je zweimal getroffen sind. Die gesamte Oberfläche ist von einem meist einschichtigen Epithel überzogen. In den ausgeprägtesten Fällen ist

das Lumen des Ganges völlig verschwunden. Man sieht nur noch einen breiten Strom dichtgelagerter spindeliger Zellen.

Auch in den Schnitten fallen die charakteristischen einzeln liegenden großen Fetttropfen in den Zellen auf.

Bindegewebe- und Blutzellen.

Die fixen Bindegewebszellen zeigen in vielen Präparaten Zeichen der beginnenden Auswanderung und Wucherung. Sie dringen einzeln ins Medium vor, bilden aber auch um die Ausgangsstücke Kapseln dichtgelagerter spindelig Zellen (Fig. 16 B), die dann ihrerseits häufig wieder von Epithel überzogen werden. In Stücken, die epithelisiert sind, gehen die Bindegewebszellen im Innern bald zugrunde.

Die Endothelzellen der Blutkapillaren bleiben in der Regel lange Zeit unverändert. Auch das Lumen bleibt erhalten und enthält oft Erythrozyten. Gelegentlich sieht man aber in günstigen Schnitten, daß die Endothelzellen, deren Kerne dabei gut erhalten sind, durch eine große Zahl feiner Vakuolen gebläht sind und das Lumen verlegt haben. Ebensolche Zellen findet man zuweilen einzeln zwischen den Epithelzellen, wo dann daneben liegende Erythrozyten den Gedanken nahelegen, daß es sich hier um eine Endothelzelle handelt. Über ihr endgültiges Schicksal vermag ich nichts Sicheres zu sagen. Es ist sehr möglich, daß sie einen Teil der makrophagenähnlichen Zellen bilden. Die Wand größerer Gefäße sieht man zuweilen noch nach Tagen mit der typischen Anordnung der Kerne in Ring- und Längsschichten erhalten. Später degenerieren sie.

Die Erythrozyten sind noch nach mehr als einer Woche nachzuweisen. Sie blassen allmählich aus und weisen auch oft Vakuolen in ihrem Leib auf. Progressive Veränderungen lassen sich nicht beobachten.

Eosinophile Zellen habe ich nur in den ersten Tagen und stets im Zustand der Degeneration mit Pyknose des Kerns gesehen.

Schnitte durch reines Epithelgewebe.

Um Aufschluß über die Anordnung der Zellen in den Fällen zu erhalten, wo eine Epithelmembran sich wieder zu einem kugeligen Zellhaufen verdichtet hat, wurden Paraffinschnitte durch eine solche Kultur hergestellt. Die Kultur hatte mehrere Tage nur aus einer einschichtigen Membran gleichartiger Zellen bestanden, enthielt also nur Epithelzellen. Nach dem Umbetten hatte sie sich zu einem

Knopf zusammengezogen, von dem von neuem eine kleine Membran ausging. Die Kultur wurde nach 17tägigem Leben *in vitro* nach Kolster fixiert, in Paraffin eingebettet und geschnitten. Färbung mit Säurefuchsin-Methylgrün.

Es zeigt sich, daß auch in dieser kleinen Zellanhäufung die zentralen Teile nekrotisch sind. Die Oberfläche des Stückes wird gebildet von einer ziemlich regelmäßigen Lage großer polyedrischer Zellen, die zahlreiche Vakuolen enthalten. In den im Innern erhaltenen Partien finden sich mehrere ziemlich große, unregelmäßige Höhlungen zwischen den Zellen. Zum Teil sind diese aber um sehr kleine Lumina so geordnet, daß das Bild eines quergeschnittenen Drüsenazinus entsteht. Die Kerne zeigen die typische breitovale Form mit 1—2 dicken rundlichen Nukleolen. Die Zellen enthalten ein dichtes, ziemlich feinkörniges Chondriom.

VI. Ergebnisse.

Überblickt man die beschriebenen Tatsachen, so ergibt sich, daß das Hühnerpankreas ein geeignetes Objekt für das Studium exokriner Drüsenzellen *in vitro* ist.

Am geeignetsten erweisen sich die Drüsen 1—2 Tage alter Küken, die noch nichts gefressen haben. Hier ist das Organ schon so groß, daß man eine beträchtliche Anzahl Kulturen daraus bereiten kann, und die meisten Kulturen zeigen ein kräftiges Epithelwachstum. Ferner besteht die Hauptmasse des Ausgangsmaterials aus voll ausdifferenzierten Drüsenzellen. Diese haben zwar ihre Tätigkeit noch nicht aufgenommen. Doch bieten auch Kulturen aus bereits tätigen Drüsen prinzipiell die gleichen Befunde.

Es kann nun keinem Zweifel unterliegen, daß alle Erscheinungen, die sich in den Explantaten beobachten lassen, auf die differenzierten Zellen des Ausgangsmaterials zurückgehen. Ebenso zweifellos beteiligen sich daran nicht nur die Epithelien der Ausführungsgänge, sondern in hervorragendem Maße das sezernierende Drüsenparenchym.

Das beweist bereits eindeutig der Befund von Sekretgranula in den Epithelmembranen. An Schnitten durch die Explantate läßt sich weiterhin die Auflösung der drüsigen Struktur und die Umordnung der Zellen zur Bildung der Wachstumshöfe Schritt für Schritt verfolgen. Ferner findet sich mitotische Teilung von Drüsenzellen, die gelegentlich Sekretgranula aufweisen.

Den anderen Teil des in den Kulturen sichtbar werdenden Epithels liefern die Zellen der Ausführungsgänge, an denen sich die gleichen Erscheinungen der Umordnung, Auswanderung und Zellvermehrung nachweisen lassen.

Bei der Bildung der Wachstumshöfe spielen Auswanderung, Zellvergrößerung und Zellvermehrung, also echtes Wachstum, eine Rolle. Ihren Anteil sicher zu bestimmen ist unmöglich. Im Innern der Explantate verfallen stets sehr erhebliche Teile dem Untergang. Vom Deckepithel sowohl wie von den Wachstumshöfen lösen sich dauernd Zellen ab und gehen zugrunde. Die Größe des hierdurch entstehenden Verlustes ist von Fall zu Fall verschieden und jedenfalls nicht meßbar.

Nur in den Endstadien der Kulturen, wenn alle Zellen in einer Membran ausgebreitet sind, werden die Verhältnisse durchsichtiger. Hier spielt für die Vergrößerung der Kulturen die Vergrößerung der Einzelzellen die ausschlaggebende Rolle. Doch sind die hier erhobenen Befunde aus noch zu erörternden Gründen nicht auf die Verhältnisse der ersten Wochen übertragbar.

Hier werden die Wachstumshöfe zu einem guten Teil durch Auswanderung der schon vorhandenen Zellen gebildet. Man hat sowohl in Totalpräparaten wie in Schnitten oft den Eindruck, daß das Stück geradezu ausfließt.

Dabei handelt es sich sicherlich um eine aktive Zellbewegung, wie Oppel (65) den Begriff gefaßt hat. Dagegen glaube ich nicht, daß man die Epithelbewegung in den Kulturen als besondere Form der „Leukozytenbewegung“ durch Pseudopodien gegenüberstellen kann, wie Oppel es gewollt hat.

Die Randzellen der Membranen weisen deutliche Pseudopodien auf, und wenn sich Zellen von den Membranen lösen, so besitzen sie Ausläufer und ändern ihre Form in der mannigfaltigsten Weise. Das stimmt mit den Befunden der meisten Untersucher an verschiedenartigem Epithelmateriale überein. Durch die Silberimprägnierung der Zellgrenzen kann man nun weiterhin feststellen, daß auch im Innern der Membranen die Zellen nicht glatt konturiert sind, sondern Zacken und Ausläufer zwischen die Nachbarzellen aussenden, wie das Fig. 3 deutlich zeigt.

Doch ist in den ersten Wochen auch echtes Wachstum durch Zellvermehrung vorhanden. Quantitative Messungen waren mir nicht möglich. Wenn sich jedoch in den Wachstumshöfen oft ein halbes Dutzend und mehr Mitosen gleichzeitig zählen lassen, wenn sich in Schnittserien oft in jedem Schnitt mehrere Teilungsfiguren finden, so kommt man unter Zugrundelegung von Levis Befunden, daß eine Zellteilung in 16–40 Minuten abläuft (zitiert nach Bisceglie), zu einer ziemlich erheblichen Vermehrungsquote, selbst

wenn man berücksichtigt, daß das Wachstum in den Kulturen in Schüben verläuft.

Infolge des Zugrundegehens einer großen Menge von Zellen kommt diese Zellvermehrung nicht als Massenzunahme zum Ausdruck.

Die Zellvermehrung geschieht durch mitotische Teilung. Mitosen habe ich in meinen Schnittserien, die Kulturen vom 2. bis zum 11. Tage der Züchtung umfassen, in ziemlich gleicher Häufigkeit gefunden. Daß sie in einzelnen Kulturen ganz vermißt werden, läßt sich leicht durch den schubweisen Ablauf des Wachstums erklären.

Später hört die Zellvermehrung offenbar auf. Die Gründe dafür sind schwer anzugeben. Die Kulturen bestehen zuletzt aus einer relativ geringen Zahl von Zellen, die zudem flach ausgebreitet auf eine große Fläche verteilt sind. Vielleicht läßt sich da die von vielen Autoren beobachtete Tatsache anführen, daß sich die normalen Gewebszellen nur in größerem Verbands vermehren können. Vielleicht aber ist einfach die Schädigung der zarten Kulturen durch die mit dem Umbetten verbundenen Eingriffe so groß, daß das Wachstum zum Stillstand kommt.

Zeichen für eine amitotische Kernteilung habe ich nur da beobachtet, wo sie offenbar zur Bildung mehrkerniger Zellen führte. Das stimmt mit den von Macklin (54) in dieser Hinsicht erhobenen Befunden überein.

Wie verhalten sich nun die spezifischen Zellcharaktere der Pankreaszellen?

Mit dem Beginn der Auswanderung geht die Polarität der Zellen, soweit sie durch die Verteilung der Granula und Mitochondrien gekennzeichnet wird, verloren. Sie ist in keiner Phase der mannigfachen Wandlungen, die die Form und Anordnung der Epithelien in den Kulturen erfahren, mehr zu erkennen.

Die Mitochondrien verlieren die Gestalt, die sie im Organismus besitzen. Sie nehmen die uncharakteristische Form kurzer Fäden und Körnchen an.

Die Zymogengranula verschwinden aus den Drüsenzellen etwa im Laufe einer Woche. Teils werden sie mit dem sie enthaltenden Teile des Zelleibes abgestoßen. Dafür spricht der Befund kleiner kugeligter Gebilde in den erweiterten Drüsenlumina, die dicht mit Zymogengranula vollgestopft sind. Um ganze, abgestorbene Zellen handelt es sich hier wohl nicht. Man kann niemals Kernreste in diesen Klümpchen erkennen. Eine solche Abstoßung des apikalen Zellteils *in vitro* ist von Champy (11) für die Prostata, von Policard (68) für die Nierenepithelien beschrieben.

Zum Teil werden die Sekretgranula aber auch in der Zelle selbst verändert. Sie verlieren allmählich ihre Färbbarkeit und sind später nicht mehr nachzuweisen. Da sich dieser Vorgang gerade in den lebenskräftigen Randpartien der Explantate zeigt, ist er als ein Zeichen aktiver Zelltatigkeit aufzufassen.

Macht eine Zelle eine mitotische Teilung durch, so scheint dies den Verlust der Sekretgranula sehr zu fördern. Nach meinen Befunden sind auch im Ausgangsmaterial die sich teilenden Zellen frei von Zymogenkörnern. In den Explantaten ist dasselbe die Regel, wenn auch Ausnahmen vorkommen.

Ob eine Neubildung von Zymogenkörnern *in vitro* stattfindet, läßt sich nicht ganz sicher entscheiden.

In den ersten Tagen, solange noch die mitexplantierten Granula in den Zellen vorhanden sind, läßt es sich natürlich nicht feststellen.

Es wäre von prinzipieller Wichtigkeit, später die Neubildung auch nur einzelner Sekretkörnern sicher nachweisen zu können. Nun ist eins ihrer Hauptkennzeichen ihre Anordnung in Gruppen, die aus nicht völlig gleich großen Einzelkörnern bestehen (Fig. 5). Diese Anordnung ist noch charakteristischer als ihre Färbung. Denn es gibt genug andere Substanzen, besonders Trümmer von Erythrozyten und ähnliches, die die gleiche Farbe annehmen. Daher läßt sich die Natur solcher Einzelkörnern, die man gelegentlich findet, nicht feststellen.

Das eine aber läßt sich mit Bestimmtheit sagen. In größerem Maßstabe findet eine Neubildung von Zymogenkörnern unter den Kulturbedingungen, die ich zu beobachten Gelegenheit hatte, nicht statt. Weder war es zu einer Zeit zu konstatieren, in der die Kulturen lebhaft proliferierten, also sicher lebenskräftig waren, noch später, wenn die Proliferation zum Stillstand kam, d. h. zu einem Zeitpunkt, in dem Fischer im Irisepithel Wiederauftreten der Pigmentbildung fand [Ebeling (19)].

Es tritt also eine allmähliche Rückbildung der morphologischen Eigentümlichkeiten in den Pankreaskulturen auf.

Dabei ist daran festzuhalten, daß zunächst Drüsen und Ausführungsgangzellen sich noch unterscheiden lassen. Nach einiger Zeit aber sind weder die Einzelzellen noch die ganze Wuchsform der Kultur sicher als vom Parenchym oder vom Gangepithel gebildet zu erkennen. Denn beide Zellarten verändern sich weitgehend in konvergenter Richtung. Besonders auch die Kerne werden so variabel, daß sie als Unterscheidungsmerkmal nicht mehr herangezogen werden können.

Dagegen ist eine Verwechslung der Epithelzellen mit Zellen mesenchymaler Herkunft da, wo sie in zusammenhängender Form wachsen, im allgemeinen ausgeschlossen. Eher ist sie da möglich, wo Einzelzellen vorliegen, wie die am Deckglas ausgebreiteten Zellen in den Verflüssigungshöhlen. Eine Unterscheidung nach spezifischen Färbungsunterschieden, wie sie Chlopin (14) für Speicheldrüsenzellen konstatiert, war mir mit den von mir angewandten Methoden nicht möglich. Die Formen der Zellen sind so mannigfaltig, daß sie als Unterscheidungsmerkmal nicht brauchbar sind. Ja, es kommen völlig makrophagenähnliche Zellen vor. Dagegen lassen die Kerne im allgemeinen keine Verwechslung zu. Nur da, wo sie von den Fetttropfen in den Zellen zu sehr eingeengt werden, versagt auch dieses Merkmal. Doch handelt es sich hier um regressive und nicht um progressive Veränderungen.

Hier mag die Erörterung einer anderen Frage eingeschoben werden. Champy und Morita (12) beschreiben als eine besondere Wuchsform der Epithelzellen in Hodenkulturen von Vögeln, die „éléments en buisson de cactus“. Sie schildern Anhäufungen von großen, mit großen Fetttropfen gefüllten Kugeln, die einen kleinen Kern und feine Pseudopodien besitzen. Sie geben auch mehrere Abbildungen dieser Zellen.

In den Pankreaskulturen finden sich ganz ähnliche Zellformen. Sie entstehen auf zweierlei Art. Entweder kugeln sich am Deckglas haftende freie Zellen ab, wobei ihr Fettgehalt bedeutend zunimmt (Fig. 10), oder sie entstehen, indem sich aus dem Epithelüberzug der Mutterstücke stark fettbeladene Zellen ablösen. Sie liegen dann einzeln oder in Gruppen im Medium oder schwimmen in der Flüssigkeit.

Nach dem ganzen Aussehen dieser Zellen handelt es sich um zugrunde gehende Elemente. Dafür spricht der sehr kleine, von den Fettkugeln förmlich zerdrückte Kern und die extreme Reduktion des Zellplasmas auf ein dünnes Wabenwerk. Es finden sich auch niemals Zeichen einer progressiven Veränderung in ihnen.

Den Membranzellen bleiben noch gewisse andere physiologische und morphologische Eigentümlichkeiten, die sie als Epithelien im allgemeinen charakterisieren, erhalten.

Das ist vor allem die Fähigkeit der Fibrinolyse. Selbst in Kulturen, deren Wachstum bereits aufgehört hat, verflüssigen die Zellen in wenigen Tagen Teile des Mediums, die ihre eigene Masse weit übertreffen. Kleine Zellinseln fressen tiefe Buchten, ja oft Gänge von erheblicher Länge in das Gerinnsel.

Eine zweite solche Eigenschaft ist die Fähigkeit, sich zu einer kompakten Masse polyedrischer, aneinander grenzender Zellen zu-

sammenzuschließen, wobei eine gewisse drüsenähnliche Anordnung zustande kommt. Es ist das offenbar eine Eigentümlichkeit, die dem Epithel in vitro ganz allgemein zukommt. So beschreiben Ebeling und Fischer (23) drüsenähnliche Bildungen aus Iris-epithel, also einer Zellart, die im Organismus nicht in drüsiger Anordnung vorkommt. In den Pankreaskulturen fanden sich ähnliche Bilder in einem Fall, wo vorher alle Zellen in einer Membran angeordnet waren, zu einer Zeit, wo wahrscheinlich die Zellvermehrung schon zum Stillstand gekommen war.

Bemerkenswert ist hierbei, daß es sich um eine Reinkultur von Epithelzellen handelt. In der Literatur wird allgemein hervorgehoben, daß drüsenähnliche Anordnung von Epithelzellen nur da vorkommt, wo sie in enger Gemeinschaft mit Bindegewebszellen sich befinden. Ähnliches läßt sich auch in den Pankreaskulturen finden (Fig. 16).

Nur Ebeling (20, 21) fand in seinen Schilddrüsenreinkulturen typische Drüsenazini, deren Zellen sogar sezernierten. Davon kann in dem beschriebenen Fall allerdings keine Rede sein. Die Zellen besitzen keinerlei morphologisch erkennbare Polarität und zeigen erst recht kein Anzeichen einer Sekretion. Sie befinden sich lediglich in einer Anordnung, die eine gewisse Ähnlichkeit mit einem Drüsenazinus aufweist.

Es fragt sich nun, ob die Pankreaszellen in vitro vielleicht neue Eigenschaften erwerben, die sie im Organismus nicht besitzen.

Hierhin könnte die so auffallende Tatsache des Auftretens tropfigen Fettes in den Zellen gehören. Sie ist ja in allen Gewebeskulturen zu konstatieren und wird, wenn sie sich in mäßigen Grenzen hält, allgemein nicht als Merkmal einer Nekrobiose, sondern als Anpassungserscheinung an die veränderten Lebensbedingungen gedeutet. So kommen in den Pankreaskulturen Zellen vor, die Fetttropfen enthalten und zugleich sich in mitotischer Teilung befinden. Gerade für die Pankreaszellen ist aber die Ablagerung histologisch nachweisbaren Fettes keine neue Eigenschaft, da in den normalen Drüsenzellen im Organismus Fetttropfen in wechselnder Menge übereinstimmend nachgewiesen sind.

In meinen Kulturen habe ich phagozytierende Epithelzellen sicher beobachtet. Das ist an sich nichts Neues. Phagozytose von Epithelzellen ist in Kulturen unter anderen von Chlopin (15) beschrieben. Lubarsch (51) vertritt ausdrücklich die Anschauung, „daß es keine Zellart (die Ganglienzellen und Knochenkörperchen

ausgenommen) gibt, die nicht gelegentlich als Phagozyten auftreten kann.“ Speziell für die Pankreaszellen nimmt Saguchi (71) an, daß die Reste der physiologischerweise zugrunde gehenden Zellen von den Nachbarzellen aufgenommen werden. Also auch die Phagozytose ist als keine prinzipiell neue, in vitro erworbene Eigenschaft aufzufassen.

Auffallend ist immerhin, daß sich kontinuierliche Übergänge von typischen Epithelzellen bis zu Formen finden, die man von Makrophagen kaum unterscheiden kann. Als erster hat Kapel (41) makrophagenähnliche Zellen ektodermalen Ursprungs beschrieben. Er sah sie aus embryonalen Ganglienzellen des Hühnchens entstehen und bezeichnete sie als epitheliale Makrophagen.

Zusammenfassend läßt sich sagen:

1. Das Vogelpankreas, speziell das Organ eben geschlüpfter Hühnchen, ist ein geeignetes Objekt, um das Schicksal exokriner Drüsenzellen *in vitro* zu verfolgen.

2. Die Wachstumserscheinungen in den Kulturen gehen von den differenzierten Zellen des Ausgangsmaterials aus.

3. Das Epithel wächst im allgemeinen in Form zusammenhängender Bänder und Membranen, an deren Bildung sich sowohl die Ausführungsgangzellen wie die exokrinen Drüsenzellen beteiligen. Inselzellen wurden bis auf einen Fall (S. 19) in den Kulturen nicht beobachtet.

4. In den ersten Tagen sind Drüsenzellen und Gangzellen voneinander zu unterscheiden, doch verwischen sich ihre Unterschiede bald vollkommen. Es findet eine „Entdifferenzierung“ im Sinne Champys statt.

5. Insbesondere gehen die Sekretkörnchen im Laufe etwa einer Woche verloren. Teils wird der sie enthaltende Zellteil abgestoßen. Teils werden sie innerhalb der Zellen verändert und verschwinden.

6. Eine Neubildung von Sekretkörnchen findet unter den gegebenen Bedingungen in den Kulturen in größerem Umfange nicht statt.

7. An der Bildung der Wachstumshöfe sind Zellwanderung, Zellvergrößerung und Zellvermehrung in wechselndem Maße beteiligt.

8. Die Epithelbewegung ist eine aktive Zellbewegung, die sich von der Bewegungsart anderer Körperzellen nicht prinzipiell unterscheidet.

9. Die Zellvermehrung geht durch mitotische Teilung vor sich. Amitotische Kernteilung führt wahrscheinlich nur zur Bildung mehrkerniger Zellen.

10. Die Epithelzellen sind in späteren Stadien als solche durch die Fähigkeit der Fibrinolyse und die Fähigkeit, sich zu kompakten drüsenähnlichen Bildungen zusammenzuschließen, charakterisiert.

11. Es gelingt, Reinkulturen von Pankreaszellen zu erzielen.

12. Die Kulturen wurden bis zur Höchstdauer von 40 Tagen am Leben erhalten. Eigentliche Dauerkulturen mit einer über einen längeren Zeitraum sich erstreckenden Zellvermehrung wurden nicht gewonnen.

13. Unter bestimmten Bedingungen treten die Epithelzellen in Form amöboider Einzelzellen auf.

14. Die Epithelzellen besitzen die Fähigkeit der Phagozytose. Unter Umständen nehmen sie die Form epithelialer Makrophagen an.

Nach Beendigung meiner Arbeit möchte ich Frau Prof. Erdmann meinen ergebensten Dank aussprechen für die Stellung des Themas sowie für das stete Wohlwollen und die Förderung, die sie mir bei der Erlernung der Technik und während meiner ganzen Arbeitszeit in ihrem Institut bewiesen hat.

Literatur.

1. Akamatsu, N., Über Gewebeskulturen von Lebergewebe. Virch. Arch., 1923, Bd. 240, S. 308—311.
2. Barta, Die in-vitro-Kulturen des Epithel- und Bindegewebes. Ungar. Med. Arch., 1928, S. 453.
3. — u. Petrovits, The morphology of the tissues of the adult organism in vitro. Arch. exper. Zellf., 1928, Bd. 6, S. 81—86.
4. Bensley, Studies on the pancreas of the guinea-pig. Amer. Journ. of Anat., 1912, Vol. 12, p. 297—390.
5. Binet et Champy, Sur les cultures de poumons in vitro. Compt. rend. Soc. Biol., 1926, T. 94, p. 1133—1134.
6. Caffier, P., Über Endometriumexplantation. Bisherige Ergebnisse. Wachstumsmechanik und Kritik. Zbl. f. Gyn., 1928, Bd. 52, S. 63—75.
7. Carraro, C. Sulla rigenerazione del pancreas. Lo Sperimentale, 1909, Vol. 63, p. 937—949.
8. Carrel u. Burrows, Cultivation in vitro of the thyreoid gland. Journ. of Exper. Med., 1911, Vol. 13, p. 416—421.

9. Champy, Ch., Sur les phénomènes cytologiques qui s'observent dans les tissus cultivés en dehors de l'organisme. I. Tissus épithéliaux et glandulaires. *Compt. rend. Soc. Biol.*, 1912, T. 72, p. 987—988.
10. — Notes de biologie cytologique. Quelques résultats de la méthode de culture de tissus. *Arch. d. Zool. expér. et génér.*, 1914, Vol. 54, p. 307—386, u. 1915, Vol. 55, p. 1—18, 61—79.
11. — Perte de la sécrétion spécifique des cellules cultivées in vitro. *Compt. rend. Soc. Biol.*, 1918, T. 83, p. 842.
12. — et Morita, Recherches sur les cultures de tissus. Observations sur les cultures de testicule et d'ovaire chez les Mammifères, les Oiseaux et les Batraciens. *Arch. f. exper. Zellf.*, 1923, Bd. 5, S. 308—340.
13. Chlopin, N., Über in-vitro-Kulturen der embryonalen Gewebe der Säugetiere. *Arch. f. mikr. Anat.*, 1922, Bd. 96, S. 435—490.
14. — Über in-vitro-Kulturen von Geweben der Säugetiere mit besonderer Berücksichtigung des Epithels. I. Kulturen der Submaxillaris. *Virch. Arch.*, 1923, Bd. 243, S. 373—386.
15. — Über in-vitro-Kulturen etc. II. Kulturen der Harnblasenschleimhaut. *Virch. Arch.*, 1924, Bd. 252, S. 748—773.
16. Clara, M., Das Pankreas der Vögel. *Anat. Anz.*, 1924, Bd. 57, S. 257—265.
17. — Eine Studie zur Kenntnis der Langerhansschen Inseln. *Zeitschr. f. mikr.-anat. Forsch.*, 1924, Bd. 1, S. 513—560.
18. Drew, A. H., Growth and differentiation in tissue cultures. *Brit. Journ. of Exper. Pathol.*, 1923, Vol. 4, p. 46—52.
19. Ebeling, A. H., Cultures pures d'épithélium proliférant in vitro depuis 18 mois. *Compt. rend. Soc. Biol.*, 1924, T. 90, p. 562—563.
20. — Cultures pures d'épithélium thyroïdien. *Compt. rend. Soc. Biol.*, 1924, T. 90, p. 1383—1385.
21. — A pure strain of thyroid cells and its characteristics. *Journ. Exper. Med.*, 1925, Vol. 41, p. 337—346.
22. — Action de l'épithélium thyroïdien en culture pure sur la croissance des fibroblastes. *Compt. rend. Soc. Biol.*, 1924, T. 90, p. 1449—1450.
23. — and Fischer, A., Mixed cultures of pure strains of fibroblasts and epithelial cells. *Journ. Exper. Med.*, 1922, Vol. 36, p. 285—289.
24. Fano, G., and Garofolini, L., Culture in vitro of germinal epithelium from embryo chick. *Journ. of Physiol.*, 1927, Vol. 63, p. 1—2.
25. — — Culture in vitro di gonadi embrionali. *Arch. di Sci. Biol.*, 1928, Vol. 12, p. 501—509.
26. Fischer, A., A three month old strain of epithelium. *Journ. Exper. Med.*, 1922 Vol. 35, p. 367—372.
27. — Cultures of organized tissues. *Journ. Exper. Med.*, 1922, Vol. 36, p. 393—397.
28. — Die Bedeutung der Reinkultur in Züchtung von Gewebezellen außerhalb des Organismus. *Med. Klin.*, 1925, S. 529—533.
29. — u. Parker, R. C., Proliferation und Differenzierung. *Arch. f. exper. Zellf.*, 1929, Bd. 8, S. 297—324.

30. Fischer, A. u. Parker, R. C., Dauerzüchtung in vitro ohne Wachstumsbeschleunigung. Arch. f. exper. Zellf., 1929, Bd. 8, S. 325—339.
31. Fischer, H., Über Regeneration und Transplantation des Pankreas von Amphibien. Arch. f. mikr. Anat., 1911, Bd. 77, S. 1—47.
32. Friedheim, A. H., Die Züchtung von menschlichem Chorionepithel in vitro. Ein Beitrag zur Lehre vom Chorionepitheliom. Virch. Arch., 1929, Bd. 272, S. 217—244.
33. Garafolini, L., Ricerche su culture di tessuti in vitro. II. Cellule epatiche e endotelio in culture di fegato embrionale. Boll. Soc. Biol. sper., 1927, Vol. 2, p. 672—675.
34. Gellé, Über die Entwicklung der Langerhansschen Inseln bei den Wirbeltieren in normaler, experimenteller und pathologischer Hinsicht. Erg. d. Anat., 1911, Bd. 20, S. 1042—1085.
35. Gianelli, L., Repartizione delle isole di Langerhans nel pancreas degli ucelli. Monit. Zool. Ital., 1913, Vol. 24, p. 107—112.
36. Heiberg, K. A., Die Inseln in der Bauchspeicheldrüse, nebst kurzer Übersicht über einige andere neuere Pankreasarbeiten. Erg. d. Anat. u. Entw.-Gesch., 1909, Bd. 19, S. 948—1034.
37. Heim, K., Lebens- und Wachstumsbeobachtungen an menschlichen Geweben und Geschwülsten im Explantationsversuch und ihre Bedeutung für klinische Fragen. Arch. f. Gyn., 1927, Bd. 131.
38. Holmes, S. I., The behavior of the epidermis of amphibians when cultivated outside the body. Journ. of Exper. Zool., 1914, Vol. 17, p. 281—295.
39. Kapel, O., Sur la culture du tissu hépatique et pancréatique. Compt. rend. Soc. Biol., 1926, T. 95, p. 1108—1109.
40. — Über Reinkultur von Epithel in vitro. Arch. f. exper. Zellf., 1927, Bd. 4, S. 143—148.
41. — Einige Untersuchungen über das Verhalten des Epithels in vitro. Arch. f. exper. Zellf., 1929, Bd. 8, S. 35—129.
42. Karminski-Charlik, Über Gewebekulturen der Säugetierleber. Li-jetschnitschki Vjesnik, 1928, Bd. 7, S. 838—847.
43. Keibel, F., u. Abraham, K., Normentafeln zur Entwicklungsgeschichte des Huhnes. Jena 1900.
44. Kolster, R., Mitochondria und Sekretion in den Tubuli contorti der Niere. Zieglers Beitr., 1911, Bd. 51, S. 209—226.
45. Krause, R., Mikroskopische Anatomie der Wirbeltiere in Einzeldarstellungen. 2. Vögel und Reptilien. Berlin 1922.
46. Kyrle, J., Über die Regenerationsvorgänge im tierischen Pankreas. Arch. f. mikr. Anat., 1908, Bd. 72, S. 141—160.
47. Lambert, R. A., u. Hanes, F. M., Beobachtungen an Gewebekulturen in vitro. Virch. Arch., 1913, Bd. 211, S. 89—1116.
48. Lane, M. A., The cytological characters of the areas of Langerhans. Amer. Journ. of Anat., 1907, Vol. 7, p. 409—422.
49. Lewis, R. L., u. Lewis, W. H., Membrane formations from tissues transplanted into artificial media. Anat. Record, 1912, Vol. 6, p. 195—205.

50. des Ligneris, M. J. A., Studies on cell growth. Serum cultures of young and adult Mammalian tissues and their relation to growth in vivo. Public. of the South African Institute for Med. Research, 1928, Vol. 3, p. 257—384.
51. Lubarsch, O., Über Phagozytose und Phagozyten. Klin. Wochenschr., 1926, Nr. 4, S. 1248—1250.
52. Luna, E., Note citologiche sull'epithelio pigmentato della retina. Arch. Ital. di Anat. e di Embr., 1917, Vol. 15, p. 542—550.
53. Lynch, R. S., The cultivation in vitro of liver cells from the chick embryo. Amer. Journ. of Anat., 1921, Vol. 29, p. 281—311.
54. Macklin, C. C., Binucleate and multinucleate cells in tissue cultures. Anat. Record, 1916, Vol. 10, p. 225.
55. Maximow, A., Über krebsähnliche Verwandlung der Milchdrüse in Gewebeskulturen. Virch. Arch., 1925, Bd. 256, S. 813—845.
56. — Tissue cultures of young mammalian embryos. Contrib. to Embryol., 1925, Vol. 16, p. 48—113.
57. Mislowsky, N., Über das Chondriom der Pankreaszellen. Arch. f. mikr. Anat., 1913, Bd. 81, S. 394—429.
58. Mitsuda, T., Über die Beziehungen zwischen Epithel und Bindegewebe bei Transplantation und Explantation. Virch. Arch., 1923, Bd. 242, S. 310—344.
59. — Untersuchungen über Trans- und Explantation von Lebergewebe unter besonderer Berücksichtigung der Pigmentfrage. Virch. Arch., 1924, Bd. 248, S. 91—100.
60. Nakamura, Untersuchungen über das Pankreas bei Föten, Neugeborenen, Kindern und im Pubertätsalter. Virch. Arch., 1924, Bd. 253, S. 286—347.
61. Neubert, K., Bau und Entwicklung des menschlichen Pankreas. Arch. f. Entw.mech., 1927, Bd. 111, S. 29—118.
62. Olivo, O. M., Differenziazione e sdifferenziazione del tessuto nervoso embrionale di pollo coltivato per più settimane in vitro. Arch. f. exper. Zellf., 1928, Bd. 5, S. 46—76.
63. Opie, E. L., Cytology of the Pancreas in Special Cytology, edited by E. V. Cowdry. 1928, Vol. 1, p. 241—271.
64. Oppel, A., Lehrbuch der vergleichenden mikroskopischen Anatomie der Wirbeltiere. Jena 1900. Bd. 3, S. 792—870.
65. — Die aktive Epithelbewegung, ein Faktor beim Gestaltungs- und Erhaltungsgeschehen. Arch. f. Entw.mech., 1913, Bd. 35, S. 371—456.
66. Osowski, H. E., Über aktive Zellbewegung im Explantat von Wirbeltierembryonen. Arch. f. Entw.mech., 1914, Bd. 38, S. 547—583..
67. Pinkus, H., Pankreas in der Gewebezüchtung. Arch. f. exper. Zellf., 1929, Bd. 8, S. 130—132.
68. Policard, A., Recherches sur les cultures de tissu rénal de mammifères. Bull. d'Histol., 1925, T. 2, p. 101—123. Compt. rend. Soc. Biol., 1925, T. 92, p. 974—976.
69. — Rapport entre les caractères de la croissance in vitro d'un groupement cellulaire et le nombre des éléments qui le constituent. Compt. rend. Soc. Biol., 1925, T. 92, p. 1510.
70. — Sur les phénomènes nucléaires au cours du développement in vitro des tissus conjonctifs et épithéliaux. Compt. rend. Soc. Biol, 1925, T 93, p. 535.

- 42 H. Pinkus, Untersuchungen über das Verhalten des Hühnerpankreas usw.
71. Saguchi, S., Studies on the glandular cells of the frog's pancreas. Amer. Journ. of Anat., 1920, Vol. 26, p. 347—421.
72. — Cytological studies of Langerhans's islets, with special reference to the problem of their relation to the pancreatic acinus tissue. Amerc. Journ. of Anat., 1920, Vol. 28, p. 1—57.
73. Siwe, St. A., Pankreasstudien. Morph. Jb., 1927, Bd. 57, S. 84—307.
74. Solucha, N. P., Über die Zellformen des Bindegewebes der Vögel in gesundem und in entzündlichem Zustande. Zit. nach L. Stieda, Erg.d.Anat. u. Entw., 1911, Bd. 20, S. 283—285.
75. Symmers, The occurrence of fat in the islets of Langerhans. Arch. of Intern. Med., 1909, Vol. 3, p. 279—285.
76. Uhlenhuth, E., The form of the epithelial cells in cultures of the frog skin and its relation to the consistency of medium. Journ. Exper. Med., 1915, Vol. 22, p. 76—104.
77. Ukai, S., Über die feinere Struktur des Pankreas bei verschiedenen Tieren. Mitteil. über allg. Path. u. path. Anat., Sendai, 1926, Bd. 3, S. 1—26.
78. Wen Chao Ma, The changes in the pancreatic cells of the guinea-pig during inanition and refeeding. Anat. Rec., 1924, Vol. 27, p. 47—60.
79. Zimmermann, K. W., Die Speicheldrüsen der Mundhöhle und die Bauchspeicheldrüse. In Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen. Herausgeg. von v. Möllendorff. Berlin 1927, Bd. 5, S. 61—229.
-

Lebenslauf.

Ich wurde als Sohn des Arztes Dr. Felix Pinkus und seiner Ehefrau Elise, geb. Etzdorf, in Berlin am 18. Nov. 1905 geboren. Zu Ostern 1912 trat ich in die Vorschule des städtischen Mommsengymnasiums zu Berlin-Charlottenburg ein. Zu Ostern 1924 bestand ich dort mein Abiturientenexamen. Ich studierte 10 Semester Medizin, davon 6 Semester in Berlin, 2 Semester in Freiburg, je 1 Semester in München und Innsbruck. Physikum und Staatsexamen legte ich in Berlin ab.
